

**MIKROALBUMINURIE, ENZYMURIE UND
STOFFWECHSELEINSTELLUNG BEI
TYP - 1 - DIABETIKERN WÄHREND
ERGOMETRISCHER BELASTUNG.**

WERNER GERSTNER

1987

Disbui. München

1987



Aus dem Institut für Diabetesforschung München

Vorstand: Prof. Dr. H. Mehnert

Prof. Dr. O.H. Wieland

**Mikroalbuminurie, Enzymurie und Stoffwechseleinstellung
bei Typ-1-Diabetikern während ergometrischer Belastung.**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Werner Gerstner

aus München

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Bachmann
Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. H. Mehnert
2. Prof. Dr. G. Paumgartner
Mitbetreuung durch
promovierte Mitarbeiter: Dr. E. Edelmann
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.1987

Herrn Prof. Dr. W. Bachmann, der mir die Mitarbeit an der Studie, die dieser Dissertation zugrundeliegt, ermöglichte, möchte ich sehr herzlich danken. Ich erhielt von ihm wertvolle Anregungen zur Auswertung und Niederschrift dieser Arbeit.

Herr Dr. E. Edelmann möchte ich ebenso von Herzen danken. Er war als Betreuer dieser Studie immer zu sprechen wenn es Probleme gab. Er machte mir zahlreiche Vorschläge zur Verbesserung der Arbeit, und seine konstruktive Kritik half mir die vorliegende Dissertation in vielen Teilen zu verbessern.

Ebenso ist es mir eine Freude Herrn Prof. Dr. W. Guder zu danken, der mir bei dieser Arbeit wertvolle Hinweise gab.

Frau cand. med. C. Preuß möchte ich ganz besonders dafür danken, daß sie mich bei den Bestimmungen im Labor in die Methodik einführte, und einen Teil der Werte in Ihren Testreihen mitbestimmte.

Den Mitarbeitern des Instituts für Diabetesforschung danke ich für Ihre Hilfsbereitschaft, wobei ich besonders Frau U. Klee erwähnen möchte, die einen Teil der vielen Laborarbeit dieser Studie übernommen hatte.

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung	1
2. Material	
2.1. Verwendete Geräte	10
2.2. Reagenzien	11
3. Meßmethoden	
3.1. Albumin im Urin	12
3.2. N-acetyl-glucosaminidase im Urin	12
3.3. Alanin-amino-peptidase im Urin	13
3.4. Glukose	13
3.5. Glucosylierte Serumproteine	14
3.6. Hämoglobin A ₁	14
3.7. Freie Fettsäuren	15
3.8. Freies Insulin	15
3.9. Laktat	16
3.10. Statistische Methoden	16
4. Patienten	
4.1. Auswahlkriterien	17
4.2. Klinische Daten	17
5. Versuchsdurchführung	
5.1. Praktischer Versuchsablauf	23
5.2. Modus der Blutabnahmen	23
5.3. Modus der Uringewinnung	24
6. Ergebnisse	
6.1. Blutdruck und Pulsfrequenz	26
6.2. Serumbestimmungen	28
6.3. HbA ₁ und glucosylierte Serumproteine	29
6.4. Albumin im Urin	
6.4.1. Meßmethodik	31
6.4.2. Albuminurie	34
6.5. Enzyme im Urin	
6.5.1. N-acetyl-glucosaminidase	40
6.5.2. Alanin-amino-peptidase	43

6.6. Zusammenhang zwischen Enzymurie und Albuminurie	
6.6.1. N-acetyl-glucosaminidase	46
6.6.2. Alanin-amino-peptidase	49
6.7. Vergleich zwischen konventioneller Insulintherapie und kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion	51
6.8. Ergebnisse der Blutparameter	
6.8.1. Glukose	56
6.8.2. Freies Insulin	58
6.8.3. Freie Fettsäuren	60
6.8.4. Laktat	62
7. Diskussion der Ergebnisse	
7.1. Kreislaufparameter und Serumbestimmungen	64
7.2. HbA _{1c} und glucosylierte Serumproteine	66
7.3. Albumin im Urin	67
7.4. Enzyme im Urin	
7.4.1. Methodik	78
7.4.2. N-acetyl-glucosaminidase	80
7.4.3. Alanin-amino-peptidase	82
7.5. Beziehung zwischen Albuminurie und Enzymurie	84
7.6. Vergleich zwischen CSII und CIT	87
7.7. Wichtige Ergebnisse einzelner Patienten	88
7.8. Blutparameter	92
8. Zusammenfassung	96
9. Literaturverzeichnis	100

1. Einleitung:

Mit der Entdeckung des Insulins durch Banting und Best 1921 und der Herstellung des ersten Insulinpräparates in Deutschland durch die Firma Hoechst 1923 hat sich die Prognose der Diabeteserkrankung entscheidend geändert. Nicht mehr das akute Krankheitsbild des Insulinmangels ist lebenslimitierend, sondern die sekundären Spätfolgen treten in den Vordergrund der Diagnostik und der Behandlung. Diese Spätfolgen sind bedingt durch diabetesspezifische Veränderungen an den Blutgefäßen, die in Form einer Mikroangiopathie zur diabetischen Nephropathie und zur Retinopathie führen können, während eine beim Diabetes frühzeitiger und ausgeprägter auftretende Makroangiopathie zur arteriellen Verschußkrankheit, zur cerebralen Ischämie und zum Herzinfarkt führt.

In einigen Studien wurde besonders für die Mikroangiopathie ein Zusammenhang mit der diabetischen Stoffwechseleinstellung aufgezeigt (1, 2, 3). Pirart untersuchte bei 7000 Diabetikern über einen langen Zeitraum die Entstehung einer diabetischen Nephropathie (4.) und fand dabei eine deutliche Abhängigkeit von der Stoffwechseleinstellung der Patienten, wobei in einer lang bestehenden Hyperglycämie der Hauptgrund für die Entwicklung spezifischer diabetischer Komplikationen gesehen wurde.

Kimmelstiel und Wilson beschrieben 1936 erstmals die Verdickung der Basalmembran der Glomeruli als Zeichen der diabetischen Nephropathie. Die Veränderungen zeigen sich in Form einer diffusen, nodulären oder diffus-nodulären Glomerulosklerose. Deren morphologisches Korrelat ist die extrazelluläre Ablagerung eines kollagenartigen Glykopro-

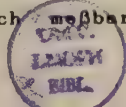
teins, die zu einer Verdickung der Basalmembran der Glomeruli, aber auch der Tubuli führt (5).

Nach Arbeiten der Jahre 1981-1983 entwickeln annähernd 40 Prozent aller Diabetiker eine diabetische Nephropathie (6, 7, 8). Gleiches wird von Andersen und Deckert berichtet, in deren epidemiologischer Verlaufsbeobachtung an 1300 Typ-1-Diabetikern 41 Prozent der Patienten eine diabetische Nephropathie entwickelten (8). Nach 7 Jahren verstarben 49 Prozent der Diabetiker mit konstanter Proteinurie, dreiviertel davon in der Urämie. Eine andere Arbeit berichtet, daß 50 Prozent der Diabetiker mit einer Erstmanifestation der Erkrankung vor dem 20. Lebensjahr in der Urämie verstarben (6).

In tierexperimentellen Untersuchungen an diabetischen Ratten konnte gezeigt werden, daß bereits nach einigen Wochen Dauer der Diabeteserkrankung eine Verdickung der glomerulären Basalmembran aufgetreten war (9, 10). Gleichzeitig konnten Mauer und Mitarbeiter (9) aber auch einen Rückgang der Dicke der Basalmembran innerhalb von 2 Monaten nach Transplantation der diabetisch veränderten Niere in eine nicht diabetische Ratte beobachten. Im Gegensatz dazu fanden Gotsche und Mitarbeiter (10) während des ersten Monats nach der Transplantation keine Besserung der Nierenveränderungen. Bei länger bestehender diabetischer Stoffwechsellage ist die Verdickung der glomerulären Basalmembran nach Mauer nicht mehr reversibel. Dagegen normalisiert sich die Albuminurie diabetischer Ratten nach Pankreastransplantation, trotz bestehender Verdickung der Basalmembran, so daß die Dicke der Basalmembran nicht per se für die verstärkte glomeruläre Durchlässigkeit für Protein verantwortlich gemacht werden kann (9).

Als erstes klinisches Zeichen einer diabetischen Nephropathie wird bisher eine Proteinurie angesehen, deren Niveau bleibend über 0,5 g/24h (=Albustix positiv) liegt (11). Das Anwachsen der glomerulären Basalmembran kann während der ersten Jahre der Erkrankung der klinischen Diagnostik verborgen bleiben, so daß beim Auftreten einer Albustix-positiven Proteinurie bereits weitreichende histologische Veränderungen vorhanden sein können (12). Die Ergebnisse der tierexperimentellen Arbeiten und die hohe Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer diabetischen Nephropathie machen es daher notwendig, nach empfindlicheren Parametern zu suchen, um frühzeitig Hinweise auf eine Veränderung der Nieren beim Diabetiker zu erhalten.

Ein frühzeitig aussagekräftiger Parameter könnte das Albumin im Urin des Diabetikers sein. Eine Mikroalbuminurie kann bereits bei neu entdeckten Typ-1-Diabetikern beobachtet werden (13, 14). Sie kann anfänglich intermittierend vorhanden sein, bevor sie im Laufe der Diabeteserkrankung in eine konstante Proteinurie übergeht (15, 16). Inwieweit eine Mikroalbuminurie, die deutlich über dem Normalbereich (bis 15 $\mu\text{g}/\text{min}$) liegt, mit einem erhöhten Risiko einhergeht eine manifeste diabetische Nephropathie zu entwickeln, wurde in verschiedenen Arbeiten untersucht (17, 18, 19). Dabei fanden Viberti und Mitarbeiter (17) in einer Verlaufsstudie bei 63 Diabetikern mit einer pathologischen Mikroalbuminurie ein deutlich erhöhtes Risiko für das Auftreten einer diabetischen Nephropathie. Mogensen und Christensen untersuchten 44 Typ-1-Diabetiker von 1969-1976. Bei der Nachuntersuchung 1983 konnten sie dann nachweisen, daß Patienten, die bei der ersten Untersuchung eine Mikroalbuminurie über 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ aufwiesen, jetzt eine Albuminausscheidung über 150 $\mu\text{g}/\text{min}$ zeigten, während Diabetiker, die anfangs unter 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ Albumin ausschieden, keine klinisch meßbare Proteinurie hatten



(18). Auch Mathiesen und Mitarbeiter (19) kamen bei über 300 Typ-1-Diabetikern zum gleichen Ergebnis, wobei hier eine Grenze der Mikroalbuminurie von 70 $\mu\text{g}/\text{min}$ angegeben wird, bei deren Überschreiten die Diabetiker vermehrt eine diabetische Proteinurie entwickelten. Diese drei Studien geben somit deutliche Hinweise darauf, daß in einer erhöhten Mikroalbuminurie eine Vorstufe einer manifesten Proteinurie gesehen werden kann.

Zwischen dem Auftreten einer Mikroalbuminurie und der Stoffwechseleinstellung des Diabetikers besteht nach Ergebnissen verschiedener Studien ein deutlicher Zusammenhang. Bei Typ-1-Diabetikern, die bei Diagnosestellung eine erhöhte Mikroalbuminurie aufwiesen, verminderte sich die Albuminausscheidung bei Verbesserung der Stoffwechseleinstellung (20, 21, 22). Als Erklärung dieser Mikroalbuminurie, die sich durch eine Verbesserung der Stoffwechseleinstellung wieder verringern läßt, gibt es verschiedene Hypothesen (23). Eine mögliche Ursache liegt in einer verstärkten Durchlässigkeit der Basalmembran der Glomeruli, die im Zusammenhang mit der Ladungsänderung steht. Diese Ladung wird verursacht durch die Synthese und den Einbau von elektronegativem Heparansulfat, das bei Verschlechterung der Diabeteseinstellung abnimmt (24). Darüberhinaus scheint eine erhöhte Glucosylierung von zirkulierendem Albumin und von endothelialen Membranbestandteilen mit erhöhter Membranpermeabilität und Mikropinocytose einherzugehen (25). Studien mit Jod 125-markiertem Albumin zeigten eine gesteigerte transkapilläre Verlustrate von Albumin bei schlecht eingestelltem Diabetes (26). Es konnte nachgewiesen werden, daß zirkulierendes glucosyliertes Albumin einen erhöhten Anteil an kationischen Ladungen besitzt, was zusätzlich die gesteigerte Permeabilität für das Albumin bei Ladungsänderung der Basalmembran erklären könnte (27).

Einen anderen Mechanismus der Mikroalbuminurie bei Typ-1-Diabetikern beschrieben Parving und Mitarbeiter (28). Denkbar ist, daß der vaskuläre arterielle Mechanismus, dem die Autoregulation der glomerulären Filtrationsrate unterliegt, bei der diabetischen Nephropathie gestört ist. Die diabetesspezifischen Veränderungen, besonders an den afferenten Arteriolen, die den Hauptort der Widerstandsänderung in der Niere darstellen, könnten die normale muskuläre Antwort auf Änderungen des Blutdrucks stören. Es käme somit zu einer Hyperfiltration verbunden mit einer vermehrten Albuminausscheidung, besonders bei Blutdruckanstiegen, wie dies bei körperlicher Belastung der Fall ist. Eine gute Stoffwechseleinstellung reduziert bei Typ-1-Diabetikern die glomeruläre Filtrationsrate (29).

Um frühzeitig eine Mikroalbuminurie sichtbar zu machen, wurde in vielen Studien versucht, mit Hilfe von körperlicher Belastung die Albuminausscheidung zu provozieren (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38). Dabei fanden sowohl Mogensen und Mitarbeiter (33, 34), als auch Viberti und Mitarbeiter (30, 35) einen Anstieg der Mikroalbuminurie während körperlicher Belastung, wobei in allen Studien eine Fahrradergometrie über einen definierten Zeitraum durchgeführt wurde. Dagegen stehen widersprüchliche Ergebnisse von Poortmans (38) und von Hermannsson und Mitarbeiter (36), die keinen Anstieg der Mikroalbuminurie nach Belastung beobachteten. Zum Teil geringe Fallzahlen in den verschiedenen Studien rechtfertigen eine allgemeine Gültigkeit jedoch noch nicht.

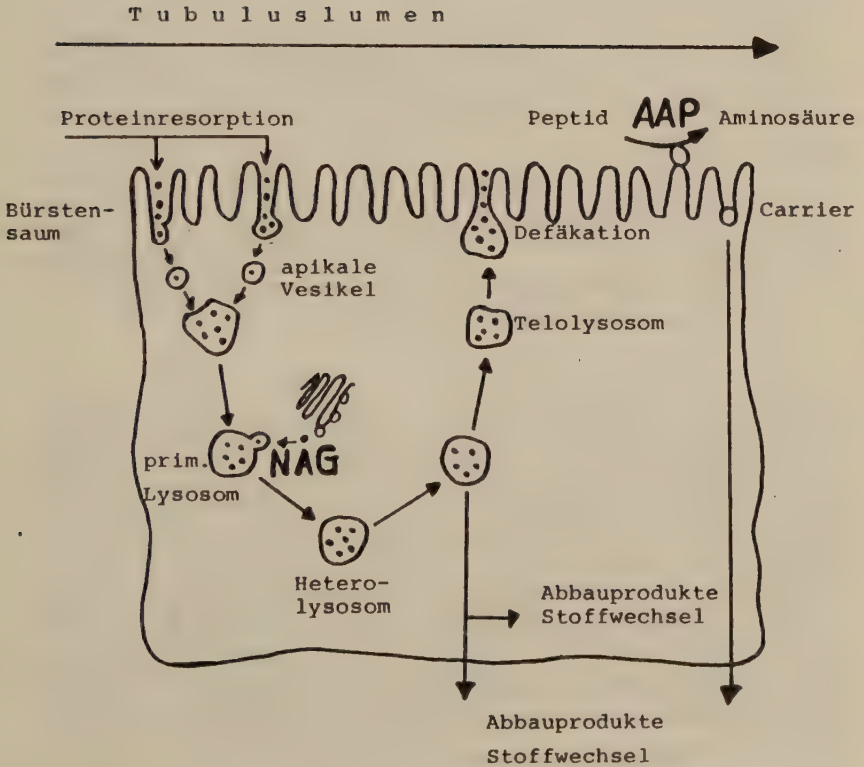
Viberti und Mitarbeiter (30) fanden bei Typ-1-Diabetikern, die mit kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion behandelt wurden, eine Verbesserung der Mikroalbuminurie bei guter Stoffwechseleinstellung innerhalb weniger Wochen. Diese Art der Insulinapplikation bietet einen neuen

Therapieansatz zur Verbesserung der Stoffwechseleinstellung, da bei einem großen Prozentsatz der Diabetiker das Ziel einer der Normoglycämie angenäherten Einstellung mit konventioneller Insulintherapie oft nicht erreicht wird (39). Hingegen konnten einige Arbeitsgruppen mit der kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion auch bei schwer einstellbaren, labilen Diabetikern eine nahezu normoglycämische Stoffwechseleinstellung erreichen (40, 41, 42, 43).

Zur Untersuchung der Integrität der proximalen Tubuli wurden in der vorliegenden Studie zwei Enzyme der proximalen Tubuluszelle im Harn bestimmt, um so Aufschlüsse über die Tubulusfunktion oder über eine Schädigung der Tubuluszelle zu erhalten. Dies ist zum einen die Alanin-amino-peptidase (AAP), zum anderen die N-acetylglucosaminidase (NAG).

Eine kurze schematische Darstellung des Proteinmetabolismus der Tubuluszelle mit Lokalisation der beiden Enzyme zeigt die Abbildung 1.

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Protein-
metabolismus der proximalen Tubulus-
der Niere.



Die Alanin-amino-peptidase (Molekulargewicht 240 000 Dalton) ist im Bereich des Bürstensaums der proximalen Tubuluszelle lokalisiert und sitzt im Tubuluslumen dem Bürstensaum auf. Dort katalysiert dieses Enzym die Spaltung von Peptiden in Aminosäuren. Die Urin-AAP ist bei vielen Erkrankungen erhöht, darunter auch beim Diabetes mellitus (44). Das Enzym gilt als verlässlicher Parameter zur Erkennung einer Schädigung der proximalen Tubuluszelle, zum Beispiel bei toxischen Schwermetall- oder Arzneimittelschädigungen, bei chronischen Harnwegsinfekten und bei der Transplantatabstoßung (45, 46, 47, 48). Nach Ergebnissen von Mondorf und Mitarbeitern (44) wiesen 57 Prozent der Patienten mit langjährigem Diabetes ohne klinische Zeichen einer diabetischen Nephropathie eine erhöhte Ausscheidung der AAP auf. Bemerkenswert ist auch, daß bei Personen mit pathologischer Glukosetoleranz ohne Diabetessymptomatik in 34 Prozent der Fälle bereits die AAP-Aktivität im Urin erhöht ist (49). Die Erhöhung der AAP könnte hierbei Ausdruck der Tubulushypertrophie sein, wie sie beim Insulinmangel auftritt (12, 14).

Die N-acetyl-glucosaminidase (Molekulargewicht 160 000 Dalton) ist eine lysosomale Hydrolase und ist innerhalb der proximalen Tubuluszelle in den Lysosomen lokalisiert. Bei Aufnahme von Proteinen aus dem Tubuluslumen wird die Synthese der NAG induziert, die zur Spaltung von Proteinen in der Tubuluszelle benötigt wird. Eine Erhöhung der Enzymaktivität im Urin wird bei der Transplantatabstoßung und bei verschiedenen Nierenerkrankungen beobachtet, wie zum Beispiel bei Harnwegsinfekten, bei Thrombosen der Nierenarterien und Nierenvenen, sowie bei einer Ischämie (50, 51). Auch beim Diabetes mellitus kann eine gesteigerte NAG-Ausscheidung gefunden werden (47, 52, 53, 54). Dabei beobachteten Brouhard und Mitarbeiter einen

Abfall der NAG-Ausscheidung beim Absinken erhöhter Blutzuckerwerte (51), andere Arbeiten zeigten ein Absinken der NAG bei guter Stoffwechseleinstellung durch diätetische Maßnahmen und Insulinapplikation (55, 56).

Wirkmechanismen, die eine Erhöhung der Enzyme im Urin bewirken können, sind entweder eine Zellschädigung mit Enzymfreisetzung oder eine vermehrte Enzymsynthese durch Induktion (57). Im Bereich der proximalen Tubuluszelle kann eine Zellschädigung zur Erhöhung der Membranpermeabilität, zum Verlust der Membran, zur Abtrennung und zur Auflösung der gesamten Zelle führen. In allen diesen Fällen resultiert eine erhöhte Ausscheidung von Zellbestandteilen im Urin. Eine gesteigerte Enzymkonzentration im Urin kann auch das Ergebnis einer vermehrten Enzymsynthese darstellen, oder auch sekundär aufgrund erhöhter Proteinabsorption im Bereich der Tubuluszelle entstanden sein. Somit braucht eine vermehrte Enzymausscheidung nicht zwangsläufig mit einer geschädigten Zellmembran zusammenhängen.

Die vorliegende Arbeit ist eine Verlaufstudie an 17 Typ-1-Diabetikern über ein Jahr. Die Zielsetzung ist die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Mikroalbuminurie, Enzymurie und Stoffwechseleinstellung. Um den Einfluß der körperlichen Belastung auf diese Bereiche zu untersuchen, wird bei jedem Diabetiker dreimal im Laufe eines Jahres in halbjährigen Abständen eine Fahrradergometrie durchgeführt. Mit diesen Ergebnissen soll dann versucht werden, eine Aussage darüber zu treffen, in welcher Weise die Mikroalbuminurie und die Enzymurie von der Stoffwechseleinstellung und der körperlichen Belastung abhängt .

2. Material :

2.1. Verwendete Geräte:

- Eppendorf Zentrifuge 3200
Photometer 1101 M
Thermostat 3401
Rotationsmischer 3300
Fa. Eppendorf, 2000 Hamburg, Deutschland
- Jenaer Glaswaren
Fa. Schott, 6500 Mainz, Deutschland
- Hettich Rotixa Standardzentrifuge
Fa. Hettich, 7200 Tübingen, Deutschland
- ph-Meter
Fa. Püsl, 8000 München, Deutschland
- Glukose- Analyser, Modell 23 A
Yellow Springs Instruments
Sturtz GmbH, 8011 Poing, Deutschland
- Waage Mettler P 160
Analysenwaage Typ H 15
Fa. Spoerhase AG, 6300 Gießen, Deutschland
- Gamma-Counter, Modell 1195 Automatic Gamma System
Searle, Nuclear Chicago Division, Chicago, USA
- Texas Instruments TI-35
Texas Instrument, 8050 Freising, Deutschland

2.2. Reagenzien:

- Organische und anorganische Substanzen

Fa. Boehringer Mannheim GmbH
 6800 Mannheim, Deutschland

Fa Merck
 6100 Darmstadt, Deutschland

- Albumin-RIA

Pharmacia AB
 S-751 82 Uppsala, Schweden

- RIA-gnost* Insulin

Behringwerke AG
 Marburg, Deutschland

- NEFAC (zur Bestimmung der freien Fettsäuren)

Wako Chemicals GmbH
 4040 Neuss, Deutschland

- Bio-Rad Hemoglobin A_{1c} by Column Test

Bio-Rad Laboratories GmbH
 8000 München, Deutschland

3. Meßmethoden:

3.1. Albumin im Urin

Die Albuminbestimmung wurde nephelometrisch mit einem kinetischen Nephelometer durchgeführt (58, 59). Die untere Nachweisgrenze lag bei dieser Methode bei 7 mg Albumin / Liter Urin.

Alle Urine, die einen Albumingehalt unter dieser Nachweisgrenze aufwiesen, wurden mit dem Radio-Immun-Assay der Firma Pharmacia nachgemessen. Bei diesem Test konkurriert das Albumin der Probe mit dem Jod-125 markierten Albumin des Tests um die Bindungsstellen an spezifischen Antikörpern. Die Trennung des gebundenen und freien Albumins geschieht durch Zentrifugation und Dekantierung. Da die Menge des markierten Albumins bekannt ist, kann aus der Radioaktivität des Niederschlags die Menge des Albumins in der Probe berechnet werden. Der Test hat einen Meßbereich von 0,2 - 160 mg/l. Der Mittelwert für gesunde Probanden wird von der Herstellerfirma Pharmacia mit 6,0 mg/l Albumin im Urin angegeben, wobei die Meßwerte zwischen 1,4 mg/l und 25,3 mg/l liegen.

3.2. N-acetyl-glucosaminidase im Urin

Die Harnenzyme wurden beide nach Gelfiltration des Urins bestimmt. Dabei wurden zwei Milliliter Harn auf eine Sephadex G-25 M-Einmalsäule aufgebracht. Mit vier Milliliter 0,9%iger NaCl-Lösung konnten dann die Enzyme eluiert werden. Es ergab sich eine Verdünnung von 1:2, die bei der Berechnung berücksichtigt werden mußte.

Zur Bestimmung der NAG wurde als Substrat p-Nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminidase verwendet, die in 0,1 M Natriumcitratpuffer (pH=4,4) gelöst war. Als Stopplösung für die

Reaktion diente 0,75 M 2-amino-2-methyl-1-propanol-Puffer ($\text{pH}=10,25$). Zur Bestimmung des Leerwertes wurden 200 μl Urineluat, 200 μl Substrat und 200 μl Stopplösung zusammengegeben. Die Meßwerte wurden aus 200 μl Urineluat und 200 μl Substratlösung ermittelt. Nach 15minütiger Inkubationszeit bei 37 Grad Celsius wurde die Reaktion durch Zugabe von 200 μl Stopplösung beendet und die photometrische Messung bei 405 nm durchgeführt (60, 61, 62). Als Normalwert wurde nach Bezug der Aktivität der NAG auf den Kreatiningehalt des Urins ein Wert von kleiner 10 Units pro Gramm Kreatinin angenommen (63). Der Variationskoeffizient von Tag zu Tag für diese Messung lag unter 14 Prozent.

3.3. Alanin-amino-peptidase

Auch die AAP wurde nach Gelfiltration bestimmt und bei 405 nm photometrisch gemessen. Substrat für die Reaktion war D-L-alanin-p-nitranilid, das in 1,2 mM Natriumcitratpuffer mit 50 ml Tris HCl ($\text{pH}=7,2$) gelöst wurde. Der Leerwert wurde mit 500 μl Substratlösung und 100 μl 0,9%iger NaCl-Lösung bestimmt. Für die Meßwerte wurden 100 μl Urineluat in 500 μl Substratlösung eingebracht. Nach 30minütiger Inkubation bei 37 Grad Celsius war die Reaktion beendet und die photometrische Messung konnte durchgeführt werden. Der Variationskoeffizient von Tag zu Tag lag bei dieser Messung zwischen 6 und 14 Prozent. Als Normalwert gilt eine AAP-Aktivität nach Bezug auf den Kreatiningehalt des Urins von kleiner 5 Units pro Gramm Kreatinin (63 , 64).

3.4. Glukose im Blut

Die Glukose wurde sofort nach der jeweiligen Blutentnahme mit dem Glukose-Analyser der Yellow Springs Instruments Corporation bestimmt. Die Meßmethode beruht auf einer

Konversion von Glukose und Sauerstoff in Glukonsäure und Wasserstoffperoxid. Der Sensor besteht aus einer Oxidase-Hydrogenperoxid-Membran, an der eine Platinanode angeschlossen ist, an der porportional zum entstandenen Sauerstoff eine elektrische Spannung aufgebaut wird. Innerhalb von einer Minute wird dann der Glukosewert digital angezeigt.

3.5. Glucosylierte Serumproteine

Die nicht enzymatisch glucosylierten Serumproteine sind ein Maß dafür, wieviel Glukose an das Lysin der Serumproteine gebunden ist. Angegeben wird diese Menge in nmol Glukose, die an Lysin gebunden ist, bezogen auf ein Milligramm Protein (nmol lys-glu /mg Prot). Die Bestimmung erfolgte mit der HPLC Chromatographie-Methode im Labor von Schleicher und Wieland (65, 66). Als Normalwert für gesunde Personen wird bei einer nur geringen intra-individuellen Schwankung ein Wertebereich von 2,3 bis 3,5 nmol lys-glu /mg Prot angegeben. Der Variationskoeffizient innerhalb einer Meßreihe war 3,9 Prozent, bei mehreren Meßreihen 8,4 Prozent (66).

3.6. Hämoglobin A₁ (HbA₁)

Die Bestimmung erfolgte mit dem Bio-Rad Säulentest der Firma Bio-Rad, München. Dabei wird eine kleine Menge heparinisiertes Vollblut mit einem hämolysierenden Reagenz versetzt und so das Hämoglobin freigesetzt. In einer Einmalsäule mit einem schwach sauren Ionenaustauscher und einem Borat-phosphatpuffer wird dann das Hämoglobin aufgetrennt. Danach erfolgt die photometrische Messung bei 415 nm. Der HbA₁-Wert gibt den Anteil des irreversibel glucosylierten Hämoglobins in den Erythrocyten an. Als Normal-

wert gilt ein Bereich von 4,5 bis 8,2 Prozent Anteil am gesamten Hämoglobin.

3.7. Freie Fettsäuren

Die freien Fettsäuren im Blut wurden mit dem enzymatischen NEFAC-Test der Firma Wako Chemicals bestimmt. Die Meßmethode beruht auf einer Umsetzung der nicht veresterten Fettsäuren in Acyl-CoA, wobei über eine Freisetzung von Wasserstoffperoxid nach Zugabe einer Acyl-CoA-oxidase diese aus 3-methyl-N-ethyl-N-anilin einen purpurfarbenen Komplex bildet, der bei 550 nm gemessen wird. Eine Standardlösung mit einer Konzentration von 1 mEq/l an freien Fettsäuren dient als Vergleichswert. Als Normalwert wird für dieses Testverfahren ein Bereich von 0,1 bis 0,6 mEq/l für gesunde Personen angegeben.

3.8. Freies Insulin

Das freie Insulin wurde nach Präzipitation mit Polyäthylenglykol mit dem Radioimmunassay, RIA-gnost[®] Insulin, der Behringwerke AG bestimmt. Polyäthylenglykol eignet sich zur Trennung von freiem und antikörpergebundenem Insulin und zeichnet sich dadurch aus, daß es hochmolekulare Proteine, so die Gammaglobuline, zuverlässig präzipitiert. Auch kommt es während der PEG-Fällung zu keiner Dissoziation des Insulinmoleküls von seinem Antikörper und somit auch zu keiner artifiziellen Erhöhung des freien Insulin, wenn Antikörper gegen Insulin vorhanden sind (67, 68).

Zuerst werden 300 µl Serum mit 300 µl Polyäthylenglykol zusammengemischt und anschließend zentrifugiert. Der präzipitierte Niederschlag wird verworfen, aus dem Überstand wird mit dem Radioimmunassay das freie Insulin

bestimmt. Dieses Meßprinzip beruht auf einer Konkurrenz von Seruminsulin und Jod-125 markiertem Insulin um begrenzt verfügbare Bindungsplätze eines spezifischen Antikörpers. Nach Ablauf der Reaktion werden die gebildeten Insulin-Antikörper-Komplexe vom verbleibenden freien Insulin durch Fällung mit PEG abgetrennt. Der im Niederschlag gefundene Anteil von jodmarkiertem Insulin verhält sich dabei umgekehrt zur Insulinkonzentration im Serum. Mit Hilfe einer Standardkurve bekannter Konzentrationen konnten so die Meßwerte für das freie Insulin ermittelt werden.

3.9. Laktat im Blut

Bei der jeweiligen Blutentnahme wurde 1 ml Vollblut in 3 ml 6%iger Perchlorsäure pipettiert und das Eiweiß damit gefällt. Nach dem Zentrifugieren wurde der Niederschlag verworfen und der Überstand mit NaHCO_3 neutralisiert. Das Laktat wurde aus diesem 1:4 verdünnten Überstand photometrisch bei 334 nm gemessen (69).

3.10. Statistische Methoden

Für den Vergleich zweier verbundener Stichproben wurden der Vorzeichentest und der Vorzeichen-Rangtest nach Wilcoxon verwendet. Bei unabhängigen Stichproben wurde der U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney durchgeführt. Ebenfalls angewendet wurden der Students-t-Test und das Rechenschema zur Berechnung der linearen Korrelation (70).

4. Patienten:

4.1. Auswahlkriterien

An der vorliegenden Studie nahmen 17 Patienten der III. Medizinischen Abteilung des Krankenhauses München Schwabing teil, die dort zu regelmäßigen Stoffwechselkontrollen in der Diabetikerambulanz erschienen. Die Patienten gaben ihre Einwilligung, im Zeitraum von einem Jahr dreimal an einem Versuch teilzunehmen, der jedesmal 2 1/3 Stunden in Anspruch nahm. Es wurden ausschließlich Typ-1-Diabetiker in die Studie aufgenommen. Weitere Auswahlkriterien waren die Forderungen, daß die Probanden kardial gesund waren, keine manifeste Nierensuffizienz aufwiesen, eine Makroangiopathie der Gefäße ausgeschlossen war (Pulsstatus ohne pathologischen Befund) und keine proliferierende Retinopathie vorlag.

4.2. Klinische Daten

Je 9 weibliche und 8 männliche Typ-1-Diabetiker wurden im Rahmen dieser Arbeit untersucht, davon erschienen 13 Patienten zu allen drei Untersuchungsterminen, während 4 Diabetiker aus persönlichen Gründen den dritten Termin nicht mehr wahrnahmen. Bei Beginn der Studie lag das Alter der Diabetiker zwischen 20 und 53 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 33 +/- 9,5 Jahren. Die Diabetesdauer betrug im Durchschnitt 15 +/- 10,4 Jahre, wobei die untere Grenze bei 3, die obere Grenze bei 44 Jahren lag. Der Zeitpunkt der Erstmanifestation des Diabetes lag bei 11 Diabetikern vor dem 20. Lebensjahr, bei den anderen 6 Probanden zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr, mit einem Durchschnittsmanifestationsalter für alle teilnehmenden Diabeti-

ker, das bei 17 $\pm$ 10,5 Jahren anzusetzen war. (Siehe hierzu Tabelle 1).

Tabelle 1: Patientendaten der 17 Typ-1-Diabetiker, die an dieser Studie teilnahmen.

Initialen	Alter/Geschlecht	Diabetesdauer (Jahre)
D.R.	53 F	16
F.H.	20 F	4
F.U.	25 M	15
K.D.	29 M	17
K.E.	46 M	44
K.I.	42 F	3
K.W.	27 M	8
L.S.	28 M	23
M.E.	44 F	21
O.T.	23 M	9
P.B.	40 F	19
P.K.	21 F	14
P.M.	40 F	32
S.B.	30 M	5
S.E.	30 M	13
S.R.	32 F	3
W.C.	23 F	16

Bei 8 Diabetikern wurde die Diabetestherapie mittels einer kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion durchgeführt. Verwendet wurden die Auto-Syringe-Pumpe von Auto-Syringe Inc., Hooksett, New Hampshire, oder die Promedos-Pumpe von Siemens, München.

7 Patienten wurden mit einer konventionellen Insulintherapie behandelt. Bei zwei Diabetikern wurde innerhalb des Beobachtungszeitraumes die Form der Behandlung geändert. Die kontinuierliche Insulininfusion wurde dabei in eine konventionelle Insulintherapie umgesetzt, da die beiden Patienten M.E. und O.T. die klinische Symptomatik einer beginnenden Hypoglycämie nicht mehr rechtzeitig bemerkten. Die verwendeten Insulinpräparate waren von den Firmen Hoechst und Lilly, wobei sowohl Human- als auch Schweineinsulin appliziert wurde. Die Applikation erfolgte in der Regel subcutan, mit Ausnahme der jeweils dritten Ergometrie bei den beiden Diabetikern D.R. und F.H., bei denen die Insulinverabreichung über einen Katheter intraperitoneal erfolgte.

Die benötigten Insulinmengen lagen zwischen 42 I.E. und 69 I.E. pro Tag. Dabei betrug der Mittelwert für die konventionelle Insulintherapie (CIT) $50,4 \pm 13,2$ I.E. pro Tag. Für die Basalraten der kontinuierlichen Insulininfusion (CSII) errechnete sich ein Wert von $36,7 \pm 5,8$ I.E. Dazu konnte der mit CSII behandelte Diabetiker zusätzlich zur Basalrate noch zu jeder Mahlzeit einen Insulinbolus abrufen, der je nach Bedarf zwischen 3 I.E. und 10 I.E. pro Mahlzeit lag. Von den konventionell behandelten Patienten spritzten fünf zweimal am Tag ein Depotpräparat, zwei Diabetiker spritzten zusätzlich mittags eine Dosis Altinsulin und eine Patientin (W.C.) war auf vier Insulindosen eingestellt. Die täglich von den Diabetikern benötigten Proteineinheiten lagen im Bereich von 10 BE bis 24 BE, je nach Körpergröße, Gewicht und Lebensweise (siehe Tabellen 2 und 3).

Tabelle 2: Daten der 7 Diabetiker, die mit der konventionellen Insulintherapie behandelt wurden.

Initialen	Insulindosis ¹⁾	Applikation	Broteinheiten
F.U.	69 E/d	s.c.	18 BE/d
K.E.	64 E/d	s.c.	14 BE/d
K.I.	38 E/d	s.c.	14 BE/d
P.B.	34 E/d	s.c.	12 BE/d
P.M.	37 E/d	s.c.	10 BE/d
S.E.	60 E/d	s.c.	16 BE/d
W.C.	51 E/d	s.c.	22 BE/d

- 1) Die angegebene Insulindosis ist ein Mittelwert zum Zeitpunkt aller drei Ergometrien, da die Dosierungen während des Versuchsjahres nur gering verändert wurden.

Tabelle 3: Daten der 10 Typ-1-Diabetiker, die mit einer kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion behandelt wurden.

Initialen	Insulindosis ²⁾	Bolus	Applikation	Proteinheiten
D.R.	30 E/d	18-26E/d	s.c./i.p.	12 BE/d
F.H.	33 E/d	22-26E/d	s.c./i.p.	13 BE/d
K.D.	34 E/d	20-24E/d	s.c.	24 BE/d
K.W.	30 E/d	20-24E/d	s.c.	20 BE/d
L.S.	34 E/d	22-24E/d	s.c.	12 BE/d
P.K.	47 E/d	14-20E/d	s.c.	12 BE/d
S.B.	38 E/d	22-24E/d	s.c.	16 BE/d
S.R.	26 E/d	14-18E/d	s.c.	12 BE/d
M.E. ³⁾	30 E/d	18-20E/d	s.c.	12 BE/d
O.T. ³⁾	40 E/d	16-18E/d	s.c.	20 BE/d

- 2) Die Insulindosis ist ein Mittelwert der Basalraten zum Zeitpunkt der drei Ergometrien.
- 3) Bei diesen beiden Patienten wurde die Insulintherapie nach der II. Ergometrie von einer kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion in eine konventionelle Insulintherapie umgewandelt.

Die Uhrzeit der Durchführung der Ergometrien war den Belangen des Patienten angepaßt. Dabei wurde aber darauf geachtet, daß der Belastungszeitraum annähernd in der Mitte zwischen zwei Insulinapplikationen lag. Ebenfalls wurde versucht alle drei Ergometrien eines Patienten zur selben Tageszeit durchzuführen. In den meisten Fällen war dies um 10.00 Uhr am Vormittag (Patienten: D.R., F.H., K.W., L.S., P.M.) oder um 14.00 Uhr am Nachmittag (Patienten: K.L., K.E., O.T., P.K., P.B., S.R.). Bei den berufstätigen Diabetikern wurden die Ergometrien um 17.00 Uhr durchgeführt (Patienten: S.B., W.C., F.U.). Bei drei Patienten (K.D., S.E., M.E.) konnten die drei Ergometrien nicht zur gleichen Tageszeit abgehalten werden.

5. Versuchsdurchführung

5.1. Praktischer Versuchsablauf

Der körperliche Belastungstest wurde mittels einer Fahrrad-ergometrie durchgeführt. Dabei erbrachten die männlichen Probanden für 20 Minuten eine Dauerleistung von 600 kpm/min, während die weiblichen Diabetiker eine Leistung von 450 kpm/min bewältigen mußten. Vor der Fahrradergometrie lag eine 60minütige erste Ruhephase, während der der Proband keiner körperlichen Leistung unterzogen wurde. Hieran schloß sich die 20minütige Ergometrie an. Nach der körperlichen Belastung wurden die Patienten noch einmal 60 Minuten in Ruhe beobachtet. In diesen zwei Stunden und 20 Minuten wurden regelmäßig der Blutdruck und die Pulsfrequenz kontrolliert.

Insgesamt wurden 47 Ergometrien durchgeführt, wobei 13 Diabetiker dreimal untersucht wurden (0.-6.- 12. Monat), 4 Diabetiker nur zweimal (0.- 6. Monat). Von den 47 ergometrischen Belastungstests wurden 22 durchgeführt, während die Diabetiker mit der konventionellen Insulintherapie behandelt wurden und 25 während kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion.

5.2. Modus der Blutentnahmen

Für die Einzelbestimmungen und für die Verläufe von bestimmten Parametern wurde den Probanden sechsmal ungefähr 10 ml Blut über eine Butterflykanüle, die bei Versuchsbeginn gelegt wurde, abgenommen.

- 1. Blutentnahme: zu Beginn der ersten Ruhephase
- 2. Blutentnahme: vor Beginn der Ergometrie
- 3. Blutentnahme: nach 10minütiger Belastung
- 4. Blutentnahme: nach Ende der 20minütigen Ergometrie

- 5. Blutentnahme: nach 30 Minuten der zweiten Ruhephase
- 6. Blutentnahme: am Ende der zweiten Ruhephase

Bei jeder Blutentnahme wurde sofort der Blutzucker gemessen. Ungefähr 5 ml Blut wurden für die Serumbestimmung asserviert, 1 ml in einem EDTA-Röhrchen für die HbA_{1c}-Bestimmung aufgehoben und 1 ml wurde mit 3 ml 6%iger Perchlorsäure gefällt, um daraus das Laktat zu bestimmen. Die Proben, die innerhalb weniger Tage bearbeitet wurden, lagerten bei 4 Grad Celsius, alle anderen Proben wurden bei minus 25 Grad eingefroren.

5.3. Modus der Uringewinnung

Für die Bestimmung der Urinparameter wurde dreimal pro Ergometrieversuch Urin asserviert. Zu Beginn der ersten Ruhephase entleerten die Patienten die Blase, um eine definierte Sammelperiode zu haben.

- Urin 1: 60minütige Sammelperiode der ersten Ruhephase vor der Ergometrie
- Urin 2: 20minütige Sammelperiode während der körperlichen Belastung
- Urin 3: 60minütige Sammelperiode der zweiten Ruhephase nach der Ergometrie

Die Patienten konnten während des Versuchs 500 ml Mineralwasser trinken, was in der Regel ausreichend war, um eine Uringewinnung auch nach der körperlichen Belastung zu gewährleisten. Die Harnverdünnung und Konzentrierung wurde dadurch berücksichtigt, daß alle Werte auf den Kreatininingehalt des Harns bezogen wurden. Sofort nach der Uringewinnung wurden alle Urine mit dem Combur-9-Teststreifen kontrolliert (71). Für quantitative Messungen wurde diese Methode nicht verwendet. Das Ergebnis diente lediglich zum

Ausschluß eines bestehenden Harnwegsinfektes, um mögliche Verfälschungen der Ergebnisse schnell erkennen zu können. Anschließend wurde der Urin mit NaHCO_3 neutralisiert, so daß ein pH-Wert von 7 erreicht wurde. Innerhalb weniger Stunden nach der Asservierung des Urins wurde dieser einer Gelfiltration unterzogen. Dabei wurde der Urin auf eine Sephadex G-25 M-Einmalsäule aufgebracht und mit 0,9%iger NaCl-Lösung das Albumin und die Enzyme eluiert (63). Die Bestimmung der Urinparameter erfolgte binnen weniger Tage, wozu das Urineluat bei 4 Grad Celsius gelagert wurde. Für spätere Bestimmungen wurde ein Teil des Nativurins und das Eluat bei minus 25 Grad Celsius tiefgefroren.

6. Ergebnisse

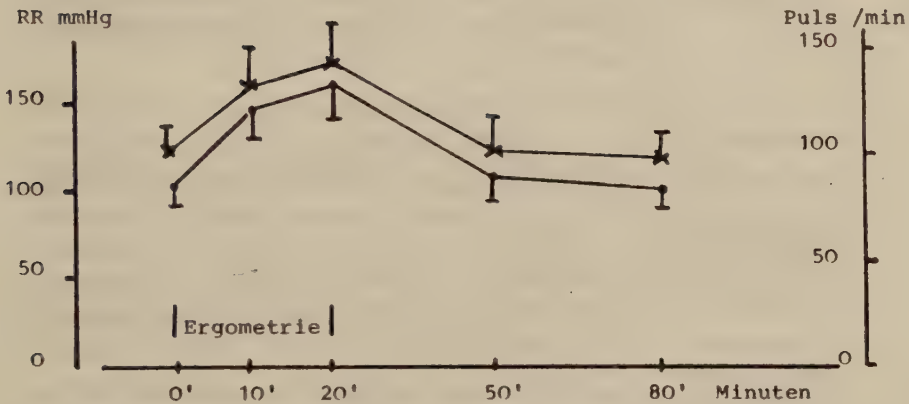
6.1. Blutdruck und Pulsfrequenz

Alle Patienten hatten Ausgangswerte vor der Ergometrie, die im Normalbereich lagen. Die Pulsfrequenz wurde mit 64 bis 96 Schlägen pro Minute gemessen, mit einem Mittelwert von $x=82 \pm 8$ /min. Der maximal erreichte Wert während oder am Ende der körperlichen Belastung lag bei 170 Schläge pro min, der Mittelwert bei $x=132 \pm 16$ /min. Nach einer halben Stunde in Ruhe nach der ergometrischen Belastung hatten die Probanden wieder den Ausgangswert der Pulsfrequenz erreicht mit $x=85 \pm 8$ /min.

Der Wert für den systolischen Blutdruck lag für alle Diabetiker in Ruhe unter 140 mmHg, mit einem Mittelwert von $x=121 \pm 14$ mmHg. Der maximale Wert während der körperlichen Belastung war 205 mmHg, im Mittel $x=168 \pm 21$ mmHg. Auch hier wurde nach einer halben Stunde in Ruhe wieder der Ausgangswert erreicht mit $x=120 \pm 17$ mmHg.

Der genaue Ablauf der Puls- und Blutdruckveränderungen während aller 47 Ergometrien ist in Abbildung 2 dargestellt.

Abbildung 2: Pulsfrequenz (•) und Blutdruck (x) von 17 Typ-1-Diabetikern bei 47 Ergometrien während des Beobachtungszeitraumes von einem Jahr
(Mittelwert und Standardabweichung)



6.2. Serumbestimmung

Bei jeder Ergometrie wurde aus einer Serumprobe für jeden Diabetiker eine Reihe von Routineparametern bestimmt: das Gesamteiweiß, das Cholesterin und die Triglyceride, sowie als Nierenparameter das Kreatinin und der Harnstoff. Die Ergebnisse für die 47 durchgeführten Ergometrien sind in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4: Serumbestimmungen von 17 Typ-1-Diabetikern bei 47 Ergometrien, mit jeweils einem Meßwert pro Versuch

	Mittelwerte	Bereich	Normalbereich
Gesamteiweiß	6,70 g/dl	6,0-7,5 g/dl	6,1-8,2 g/dl
Cholesterin	191 mg/dl	127-297 mg/dl	-220 mg/dl
Triglyceride	86 mg/dl	25-326 mg/dl	50-150 mg/dl
Kreatinin	0,8 mg/dl	0,6-1,2 mg/dl	0,7-1,2 mg/dl
Harnstoff	28 mg/dl	12-62 mg/dl	20-50 mg/dl

Mit dem Kreatinin im Serum und im Urin, sowie einer zeitlich definierten Sammelperiode konnte für alle Ergometrien die Kreatininclearance der Diabetiker berechnet werden. Dabei fand sich ein Bereich zwischen 64 und 255 ml/min, im Mittel von $x=143 \pm 48$ ml/min. In der Regel war die Clearance größer als 80 ml/min, nur für Patientin D.R. errechneten sich gering erniedrigte Werte zwischen 64 und 80 ml/min. Bei zwei Diabetikerinnen (K.I. und P.K.) fanden sich erhöhte Clearancewerte bei jeweils zwei Ergometrien zwischen 230 und 255 ml/min. Als Normalbereich kann ein Intervall von 80 bis 160 ml/min angesehen werden.

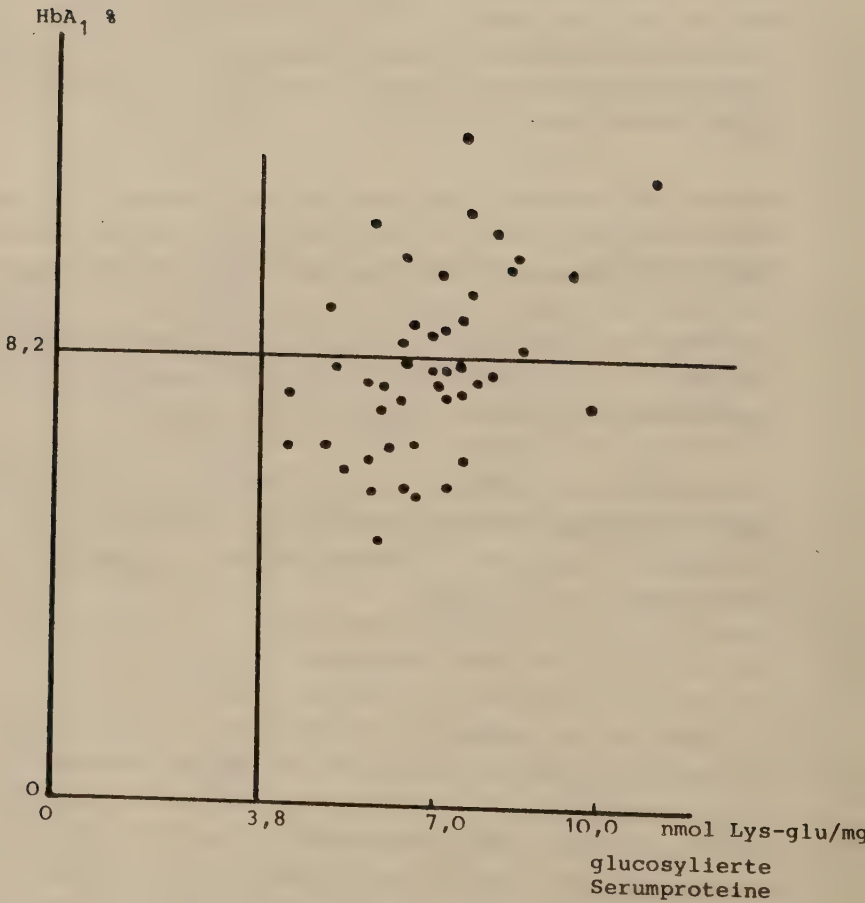
6.3. HbA_{1c} und glucosylierte Serumproteine

Keiner der teilnehmenden Diabetiker lag mit dem Wert für die glucosylierten Serumproteine im Normalbereich bis 3,5 nmol lys-glu/mg Prot. Die gemessenen Werte schwankten zwischen 4,4 und 17,4 nmol lys-glu/mg Prot., wobei 46 Meßwerte im Bereich von 4,4 bis 10,0 nmol lys-glu/mg Prot. lagen und nur ein Wert (17,4 nmol lys-glu/mg Prot.) nach einer Stoffwechselentgleisung extrem erhöht war. Der Mittelwert für die 47 Werte lag bei $\bar{x}=7,2 \pm 1,9$ nmol lys-glu/mg Prot.

Bei den HbA_{1c}-Werten fanden sich 28 von 47 Meßwerten im Normalbereich, der bis 8,2 Prozent Anteil des HbA_{1c} am gesamten Hämoglobin angegeben wird. Das HbA_{1c} der 17 Typ-1-Diabetiker fand sich in einem Intervall zwischen 4,9 und 17,7 Prozent, wobei 46 Werte unter 12,2 Prozent lagen und wiederum nur ein Wert extrem erhöht war. Der Mittelwert für alle gemessenen HbA_{1c}-Werte war $\bar{x}=8,3 \pm 2,1$ Prozent.

Die Beziehungen zwischen den beiden Parametern, den glucosylierten Serumproteinen und dem HbA_{1c} erbrachte bei 47 Wertepaaren eine positive Korrelation mit $r=0,820$ und einer Signifikanz von $p < 0,001$.

Abbildung 3: Korrelation zwischen 47 Wertepaaren des HbA_{1c} und der glucosylierten Serumproteine bei 17 Typ-1-Diabetikern, gemessen vor der ergometrischen Belastung.



6.4. Albumin im Urin

6.4.1. Meßmethodik

Die Werte der Albuminbestimmung im Urin können der Tabelle 5 entnommen werden. Es fand sich ein großer Meßbereich zwischen 1,8 mg/g Crea und 360 mg/g Crea bei 141 Meßwerten. Da die Messungen mit der Nephelometrie nur bis 7 mg Albumin/l Urin empfindlich waren, wurden Urinproben mit einem geringeren Albumingehalt mit einem Radioimmunoassay nachgemessen. Dabei wurden folgende Ergebnisse gefunden:

- Im Meßbereich unterhalb der nephelometrischen Nachweisgrenze von 7 mg/l waren von 20 Meßwerten bei der RIA-Messung 18 Meßwert (= 94 Prozent) ebenfalls unterhalb dieses Wertes. Die Albuminwerte lagen dabei zwischen 1,1 und 7,0 mg Albumin/l Urin. Zwei Meßwerte lagen gering höher, obwohl bei der Nephelometrie die beiden Proben unter der Nachweisgrenze lagen.

- Im Meßbereich hoher Albuminwerte wurde eine Vergleichsmessung von Nephelometrie und Radio-Immun-Assay durchgeführt, um eine Beziehung zwischen beiden Meßmethoden herstellen zu können. Bei 14 Vergleichsmessungen ergab sich rechnerisch eine Korrelation von $r=0,951$ und eine Signifikanz mit $p < 0,005$.

Aufgrund dieser sehr guten positiven Korrelation wurde angenommen, daß diese auch für nephelometrisch nicht mehr messbare Werte besteht. Dies ermöglicht in der vorliegenden Arbeit Meßwerte über 7,0 mg Albumin/l Urin nach nephelometrischen Bestimmungen und Werte unter 7,0 mg/l nach RIA-Bestimmungen gleichzeitig zu verwenden.

Abbildung 4: Korrelation zwischen den Albuminwerten im Urin bei RIA- und Nephelometrie-Messung von 14 Urinproben.

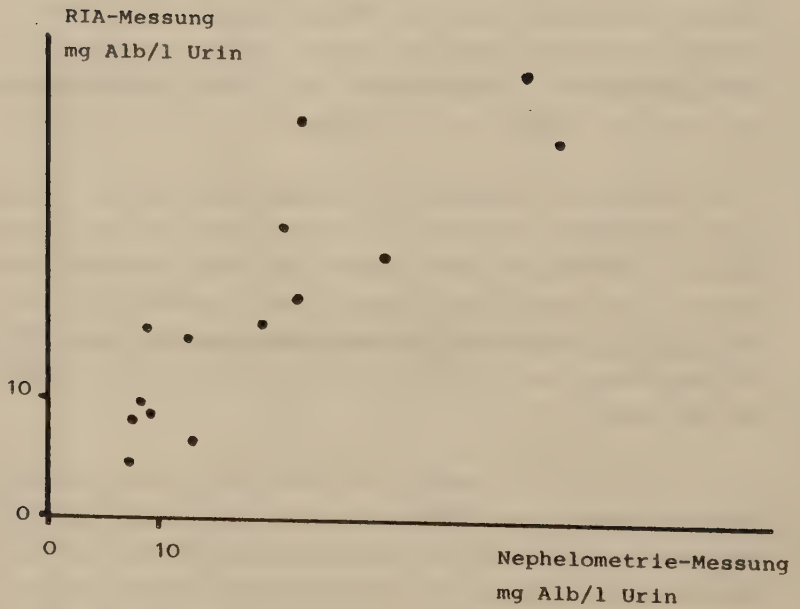


Tabelle 5: 140 Albuminwerte im Urin, ermittelt bei 17
 Typ-1-Diabetikern während 47 Ergometrien mit
 jeweils drei Meßwerten. Angabe der Werte in
 mg Albumin pro Gramm Kreatinin im Urin.

Initialen	I. Ergometrie			II. Ergometrie			III. Ergometrie		
D.R.	30,1	162,7	90,0	11,6	58,1	10,0	4,8	8,0	7,1
F.H.	4,1	3,9	1,8	15,4	37,7	27,9	9,2	7,3	11,1
F.U.	13,5	----	15,8	17,0	23,4	26,5	18,3	23,0	46,3
K.E.	7,9	11,0	8,7	8,7	27,0	23,1	8,0	8,6	7,7
K.I.	11,1	9,1	24,0	14,7	9,1	9,8	15,2	16,6	11,2
L.S.	50,4	86,6	66,2	23,0	25,9	41,5	27,2	25,1	20,3
M.E.	21,9	13,7	20,3	4,8	14,4	5,6	13,4	30,8	35,6
O.T.	14,9	9,1	7,7	12,2	8,7	9,1	18,0	12,3	12,8
P.B.	42,4	50,4	52,4	142,8	78,7	86,9	18,1	37,8	23,9
P.K.	105,9	28,8	16,2	11,3	2,3	39,2	10,7	5,7	32,6
P.M.	65,8	114,1	40,5	21,0	62,2	104,6	14,4	46,7	30,0
S.E.	143,6	313,3	192,2	90,9	49,7	121,7	56,3	33,2	264,5
S.R.	9,7	31,9	44,0	3,5	2,6	37,9	9,8	8,7	9,0
K.D.	4,2	4,4	5,9	12,6	12,9	12,9	-----		
K.W.	4,3	8,3	8,4	3,9	6,6	10,0	-----		
S.B.	45,0	21,6	11,1	5,1	8,1	7,0	-----		
W.C.	8,2	27,0	27,1	4,0	5,5	5,1	-----		

6.4.2. Albuminurie

Betrachtung der Albuminurie über den Beobachtungszeitraum von einem Jahr

Bei 13 Diabetikern, die während des einjährigen Beobachtungszeitraumes keine konstante Albuminausscheidung aufwiesen, wurden die Ergebnisse aller Ergometrien herangezogen und für den 0., 6. und 12. Monat die Mittelwerte gebildet. Dabei errechneten sich folgende Ergebnisse:

0.Monat:Ergometrie I Urin 1: $x=14,6 \pm 11,8\text{mg Alb/g Crea}$
 $n=13$ Urin 2: $x=27,6 \pm 41,7\text{mg Alb/g Crea}$
 Urin 3: $x=21,6 \pm 22,5\text{mg Alb/g Crea}$

6.Monat:Ergometrie II Urin 1: $x=9,6 \pm 4,6\text{mg Alb/g Crea}$
 $n=13$ Urin 2: $x=16,6 \pm 15,6\text{mg Alb/g Crea}$
 Urin 3: $x=17,2 \pm 11,7\text{mg Alb/g Crea}$

12.Monat:Ergometrie III Urin 1: $x=11,9 \pm 4,3\text{mg Alb/g Crea}$
 $n=9$ Urin 2: $x=13,4 \pm 8,0\text{mg Alb/g Crea}$
 Urin 3: $x=19,3 \pm 13,9\text{mg Alb/g Crea}$

Das Ergebnis für die dazugehörigen Werte des HbA₁ und der glucosylierten Serumproteine (GSP) lautet:

Ergometrie I HbA₁: $x=8,8 \pm 1,9$ Prozent
 $n=13$ GSP : $x=6,6 \pm 0,9$ nmol lys-glu/mg Prot.

Ergometrie II HbA₁: $x=8,6 \pm 2,4$ Prozent
 $n=13$ GSP : $x=7,6 \pm 2,9$ nmol lys-glu/mg Prot.

Ergometrie III HbA₁: $x=7,9 \pm 1,9$ Prozent
 $n=9$ GSP : $x=7,4 \pm 1,2$ nmol lys-glu/mg Prot.

Es zeigte sich während des einjährigen Beobachtungszeitraumes keine signifikante Veränderung der Albuminausscheidung im Urin. Tendenziell war eine leichte Verbesserung nach 6 und 12 Monaten im Vergleich mit den Ausgangswerten erkennbar.

Auch die Stoffwechseleinstellung erbrachte für die beiden Parameter HbA_{1c} und GSP keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Für die vier Diabetiker mit konstant erhöhter Albuminausscheidung (L.S., P.B., P.M., S.E.) ergab sich im Beobachtungsjahr das folgende Ergebnis:

0.Monat:Ergometrie I	Urin 1:	$x = 75,6 \pm 40,2 \text{ mg Alb/g Crea}$
n=4	Urin 2:	$x = 141,1 \pm 102,0 \text{ mg Alb/g Crea}$
	Urin 3:	$x = 87,8 \pm 61,0 \text{ mg Alb/g Crea}$

6.Monat:Ergometrie II	Urin 1:	$x = 69,4 \pm 50,9 \text{ mg Alb/g Crea}$
n=4	Urin 2:	$x = 54,2 \pm 19,3 \text{ mg Alb/g Crea}$
	Urin 3:	$x = 88,7 \pm 29,9 \text{ mg Alb/g Crea}$

12.Monat:Ergometrie III	Urin 1:	$x = 29,0 \pm 16,4 \text{ mg Alb/g Crea}$
n=4	Urin 2:	$x = 35,7 \pm 7,8 \text{ mg Alb/g Crea}$
	Urin 3:	$x = 84,7 \pm 93,9 \text{ mg Alb/g Crea}$

Für die zugehörigen HbA_{1c}- und GSP-Werte errechnete sich folgendes Ergebnis:

Ergometrie I	HbA _{1c} :	$x = 9,1 \pm 0,9 \text{ Prozent}$
n=4	GSP :	$x = 7,7 \pm 1,6 \text{ nmol lys-glu/mg Prot.}$

Ergometrie II	HbA _{1c} :	$x = 7,2 \pm 1,1 \text{ Prozent}$
n = 4	GSP :	$x = 7,3 \pm 1,7 \text{ nmol lys-glu/mg Prot.}$

Ergometrie III HbA₁: $x=8,0 \pm 1,9$ Prozent
 n=4 GSP : $x=6,4 \pm 1,3$ nmol lys-glu/mg Prot.

Hier zeigte sich eine Verringerung der Albuminurie sowohl zwischen dem 0. und 6. Monat, als auch zwischen dem 6. und 12. Monat des Beobachtungszeitraumes. Eine statistische Signifikanz war wegen der geringen Fallzahlen nicht zu errechnen.

Gleichzeitig fand sich auch eine leichte Verbesserung der Stoffwechseleinstellung bei diesen vier Diabetikern, was in einem Absinken der glucosylierten Serumproteine und im ersten halben Jahr auch des HbA₁ zu erkennen war.

Albuminurie und Ergometrie

Zur Beurteilung der Abhängigkeit der Mikroalbuminurie von der körperlichen Belastung wurden von 13 Diabetikern, die keine konstante Albuminausscheidung aufwiesen, die Albuminwerte aller 35 Ergometrien zusammengefaßt. Es errechnete sich folgendes Ergebnis:

Urin 1: $x=11,9 \pm 8,2$ mg Alb/g Crea

Urin 2: $x=19,7 \pm 27,6$ mg Alb/g Crea

Urin 3: $x=19,4 \pm 17,1$ mg Alb/g Crea

Der Anstieg der Albuminurie während der körperlichen Belastung war statistisch nicht signifikant. Dagegen erbrachte der Vergleich der Ausgangswerte im Urin 1 mit den Werten der Ruhephase nach den Ergometrien eine statistisch signifikante Erhöhung der Albuminausscheidung von $p < 0,05$.

Für die vier Diabetiker mit konstant erhöhter Albuminurie ergab sich bei 12 Ergometrien folgendes Ergebnis:

Urin 1: $x=58,0 \pm 43,8$ mg Alb/g Crea

Urin 2: $x=76,9 \pm 75,6$ mg Alb/g Crea

Urin 3: $x=87,0 \pm 71,7$ mg Alb/g Crea

Auch hier war der Anstieg der Albuminausscheidung während der ergometrischen Belastung nicht signifikant. Aber auch der Vergleich zwischen Urin 1 und Urin 3 brachte eine Signifikanz mit $p < 0,05$.

Deutlicher zeigte sich der Einfluß der körperlichen Belastung auf die Albuminurie bei Diabetikern, die während der Ergometrie im Urin eine Albuminausscheidung unter 10 mg/g Crea aufwiesen, und somit im Normalbereich lagen. Für 16 Ergometrien bei denen dies zutraf ergaben sich folgende Werte:

Urin 1: $x= 6,3 \pm 2,3$ mg Alb/g Crea

Urin 2: $x=11,5 \pm 8,7$ mg Alb/g Crea

Urin 3: $x=13,7 \pm 12,1$ mg Alb/g Crea

Der Vergleich der Albuminausscheidung in Ruhe vor und nach körperlicher Belastung erbrachte eine signifikant erhöhte Ausscheidung während der Ergometrie ($p < 0,05$). Der weitere Anstieg der Albuminurie im Urin 3 nach der körperlichen Belastung war im Vergleich zu den Ausgangswerten ebenfalls signifikant ($p < 0,01$).

Bei der Betrachtung der Abhängigkeit der Albuminurie von der körperlichen Belastung war es notwendig, in einer Zusatzbetrachtung einen Vergleich zwischen der Benennung mg/g Crea, die in dieser Arbeit verwendet wird und der Benennung $\mu\text{g}/\text{min}$, die in vielen Literaturarbeiten verwendet wurde, anzustellen.

Es ergab sich für die 35 Ergometrien bei Diabetikern, die keine konstant erhöhte Mikroalbuminurie aufwiesen, das folgende Ergebnis:

Urin 1: 12,4 +/- 8,9 ug/min

Urin 2: 19,2 +/- 15,5 ug/min

Urin 3: 18,8 +/- 17,8 ug/min

Für die 12 Ergometrien bei Diabetikern mit konstant gesteigerter Albuminurie errechnete sich folgendes Ergebnis:

Urin 1: 67,6 +/- 58,0 ug/min

Urin 2: 83,7 +/- 108,6 ug/min

Urin 3: 71,8 +/- 66,5 ug/min

Dies entspricht annähernd den Ergebnissen nach Bezug der Albuminausscheidung auf den Kreatiningehalt des Urins.

Albuminurie und Stoffwechseleinstellung

Der Zusammenhang zwischen der Mikroalbuminurie und der Stoffwechseleinstellung wurde im Vergleich zweier Gruppen untersucht, die nach dem Wert der glucosylierten Serumproteine gebildet wurden. Eine Gruppe mit sehr guter Stoffwechseleinstellung (GSP $\leq$ 6,0 nmol lys.glu/mg Prot.) wurde mit einer Gruppe mit schlechter Einstellung (GSP $\geq$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot.) verglichen. Dabei wurden die Ergebnisse von Ergometrieversuchen verwendet, die diesen Voraussetzungen entsprachen, unabhängig welcher Patient dies war und zu welchem Zeitpunkt die Ergometrie abgehalten wurde.

Es fand sich folgendes Ausscheidungsverhalten für das Albumin im Urin:

GSP $\leq$ 6,0 nmol lys-glu/mg Prot.:

n=7	Urin 1: $\bar{x}$ = 9,3 +/- 3,6 mg Alb/g Crea
	Urin 2: $\bar{x}$ = 12,0 +/- 8,7 mg Alb/g Crea
	Urin 3: $\bar{x}$ = 18,4 +/- 14,8 mg Alb/g Crea

GSP $\geq$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot.:

n=5	Urin 1: $\bar{x}$ = 12,5 +/- 4,8 mg Alb/g Crea
	Urin 2: $\bar{x}$ = 18,3 +/- 11,1 mg Alb/g Crea
	Urin 3: $\bar{x}$ = 20,1 +/- 15,1 mg Alb/g Crea

Nicht verwendet wurden bei diesem Vergleich die Meßwerte von Patienten mit konstant erhöhter Albuminurie.

Beim statistischen Vergleich der beiden Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied, sowohl vor, als auch während und nach der ergometrischen Belastung. Deutlich sichtbar ist aber die Tendenz einer geringeren Ausscheidung von Albumin in der Gruppe der Diabetiker mit guter Stoffwechseleinstellung.

6.5. Enzyme im Urin

6.5.1. N-acetyl-glucosaminidase

Bei 47 Ergometrien wurden 140 Meßwerte der NAG erhalten. Dabei war der niedrigste Wert 1,4 U/g Crea, der höchste Wert 40,5 U/g Crea. Alle Ergebnisse können der Tabelle 6 entnommen werden.

Tabelle 6: Aktivität der N-acetyl-glucosaminidase im Urin bei 17 Typ-1-Diabetikern bei 47 durchgeführten Ergometrien. Angabe in Units pro Gramm Kreatinin im Urin (U/g Crea).

Initialen	I. Ergometrie	II. Ergometrie	III. Ergometrie
D.R.	17,8 21,7 10,6	4,6 7,5 5,0	16,2 26,0 11,1
F.H.	4,6 3,7 4,3	6,1 9,6 40,5	9,0 9,9 4,1
F.U.	4,4 --- 5,5	9,0 8,5 8,7	5,8 6,2 5,7
K.E.	3,9 4,2 4,8	3,9 5,0 3,2	4,8 6,0 7,1
K.I.	7,2 7,3 11,1	16,1 10,7 10,7	6,4 6,3 5,5
L.S.	3,2 6,7 10,4	4,3 5,0 12,1	4,0 2,8 1,4
M.E.	4,2 4,2 4,8	7,4 10,7 18,0	6,1 8,4 18,5
O.T.	11,0 7,3 7,2	5,4 5,6 4,0	17,6 12,6 9,7
P.B.	11,5 18,1 24,5	10,3 11,0 9,0	18,3 13,5 11,0
P.K.	13,0 11,3 13,9	6,8 1,4 7,6	8,7 7,2 8,6
P.M.	11,0 8,7 17,0	9,7 8,0 14,6	5,6 7,7 7,5
S.E.	13,3 12,7 39,0	6,8 19,4 13,5	8,8 12,3 31,4
S.R.	8,3 7,3 24,1	5,2 5,5 7,5	21,2 7,9 5,5
K.D.	3,3 2,1 2,4	5,1 3,3 4,2	-----
K.W.	5,0 6,1 4,1	3,9 5,6 7,2	-----
S.B.	7,1 5,9 5,7	3,1 4,7 3,6	-----
W.C.	7,5 5,9 6,0	5,9 4,7 4,7	-----

Betrachtung der NAG-Ausscheidung während des einjährigen Beobachtungszeitraums

Von den 17 Typ-1-Diabetikern wurden die Ergebnisse bei 0, 6 und 12 Monaten zusammengefaßt und das Ausscheidungsverhalten für die NAG berechnet. Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

0. Monat: Ergometrie I	Urin 1: $x = 7,9 \pm 4,0$ U/g Crea
n=17	Urin 2: $x = 8,2 \pm 5,0$ U/g Crea
	Urin 3: $x = 11,5 \pm 9,4$ U/g Crea

6. Monat: Ergometrie II	Urin 1: $x = 6,7 \pm 3,1$ U/g Crea
n=17	Urin 2: $x = 7,5 \pm 3,9$ U/g Crea
	Urin 3: $x = 10,3 \pm 8,4$ U/g Crea

12. Monat: Ergometrie III	Urin 1: $x = 10,1 \pm 5,5$ U/g Crea
n=13	Urin 2: $x = 9,6 \pm 5,3$ U/g Crea
	Urin 3: $x = 9,5 \pm 7,2$ U/g Crea

Der statistische Vergleich der Werte für die Enzymurie zu den Zeitpunkten der Messungen erbrachte keine signifikanten Unterschiede.

NAG-Ausscheidung und Ergometrie

Zur Beurteilung der Abhängigkeit der Enzymurie der NAG von der körperlichen Belastung wurden die Werte aller 47 durchgeführten Ergometrien zusammengefaßt.

Urin 1: $x = 8,2 \pm 4,4$ U/g Crea
Urin 2: $x = 8,3 \pm 4,9$ U/g Crea
Urin 3: $x = 10,3 \pm 8,5$ U/g Crea

Auch hier zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der Enzymurie während und nach der körperlichen Belastung.

NAG-Ausscheidung und Stoffwechseleinstellung

Es wurde die Enzymurie der NAG einer Gruppe von Diabetikern mit guter Stoffwechseleinstellung (GSP $\leq$ 6,0 nmol lys-glu/mg Prot.) und einer Gruppe mit schlechter Einstellung (GSP $\geq$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot.) miteinander verglichen. Dabei ergaben sich folgende Ergebnisse:

GSP $\leq$ 6,0 nmol lys-glu/mg Prot.:

n=9

Urin 1: $\bar{x}=5,8 \pm 2,5$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=4,2 \pm 2,2$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=8,1 \pm 7,2$ U/g Crea

GSP $\geq$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot.:

n=8

Urin 1: $\bar{x}=10,6 \pm 4,0$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=10,9 \pm 3,1$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=15,6 \pm 10,7$ U/g Crea

Deutlich zeigte die Gruppe der gut eingestellten Diabetiker in allen Sammelperioden eine niedrigere NAG-Ausscheidung im Vergleich zu den schlecht eingestellten Diabetikern. Diese Unterschiede waren im Urin 1 vor der körperlichen Belastung und im Urin 2 während der Ergometrie jeweils mit $p < 0,01$ statistisch signifikant. Der Unterschied im Urin 3 in der Ruhephase nach der körperlichen Belastung war statistisch nicht signifikant, zeigte aber auch eine deutlich höhere Enzymurie der schlecht eingestellten Diabetiker.

6.5.2. Alanin-amino-peptidase

Bei 47 Ergometrien wurden 140 Meßwerte für die AAP ermittelt. Dabei lag der niedrigste Wert bei 1,2 U/g Crea und der höchste bei 20,8 U/g Crea. Alle Ergebnisse können der Tabelle 7 entnommen werden.

Tabelle 7: Aktivität der Alanin-amino-peptidase im Urin von 17 Typ-1-Diabetikern bei 47 Ergometrien, die innerhalb eines Jahres durchgeführt wurden. Angabe in Units pro Gramm Kreatinin im Urin (U/g Crea).

Initialen	I.Ergometrie			II.Ergometrie			III.Ergometrie		
D.R.	6,6	8,6	7,2	5,5	7,2	4,9	5,8	5,1	20,8
F.H.	5,5	4,2	4,0	5,6	7,2	8,6	1,6	2,1	8,3
F.U.	5,4	---	7,1	5,1	4,7	1,3	5,5	6,3	7,0
K.E.	5,4	6,3	6,3	4,3	4,5	2,5	1,5	2,4	1,7
K.I.	6,3	6,4	7,5	7,5	4,5	8,6	4,2	12,8	3,7
L.S.	6,4	4,1	8,9	8,2	8,7	8,0	4,8	4,7	4,7
M.E.	5,5	6,2	6,0	8,5	5,9	1,5	8,8	7,2	11,2
O.T.	5,9	8,7	4,4	1,8	1,7	1,7	3,5	1,9	1,2
P.B.	8,8	9,4	10,8	2,1	1,8	3,2	7,6	6,7	6,1
P.K.	4,8	3,0	4,5	2,3	1,2	3,2	3,1	2,0	4,0
P.M.	10,2	9,9	7,3	8,7	10,1	3,8	7,2	9,1	8,6
S.E.	16,7	8,9	17,0	7,9	6,2	11,4	8,6	11,1	2,8
S.R.	6,5	7,1	7,9	6,1	6,5	5,5	1,6	1,4	1,7
K.D.	8,5	7,7	7,4	11,2	7,2	12,1	-----		
K.W.	7,0	9,0	6,5	6,6	6,6	6,0	-----		
S.B.	6,0	5,5	6,2	2,5	3,5	1,3	-----		
W.C.	1,7	1,8	1,9	3,7	6,1	1,6	-----		

AAP-Ausscheidung während des einjährigen Beobachtungszeitraums

Alle zum gleichen Zeitpunkt, bei Beginn der Studie, nach 6 und nach 12 Monaten durchgeführten Ergometrien wurden zusammengefaßt. Dabei ergab sich folgendes Ergebnis:

0. Monat: Ergometrie I n=17	Urin 1: $x=6,9 \pm 2,8$ U/g Crea
	Urin 2: $x=6,7 \pm 2,3$ U/g Crea
	Urin 3: $x=7,1 \pm 3,1$ U/g Crea
6. Monat: Ergometrie II n=17	Urin 1: $x=5,7 \pm 2,6$ U/g Crea
	Urin 2: $x=5,5 \pm 2,3$ U/g Crea
	Urin 3: $x=5,0 \pm 3,5$ U/g Crea
12. Monat: Ergometrie III n=13	Urin 1: $x=4,9 \pm 2,5$ U/g Crea
	Urin 2: $x=5,6 \pm 3,6$ U/g Crea
	Urin 3: $x=6,3 \pm 5,1$ U/g Crea

Es zeigte sich im Verlauf des Beobachtungszeitraums eine deutliche Verbesserung der Enzymurie der AAP. Dabei war der Vergleich der 17 Ergometrien zu Beginn und nach 6 Monaten statistisch nicht signifikant. Bei den 13 Diabetikern, die an allen drei Versuchen teilnahmen, war der Vergleich der AAP-Ausscheidungen zu Beginn und am Ende der Studie nach 12 Monaten mit $p < 0,05$ für alle drei Urine vor, während und nach der körperlichen Belastung signifikant.

AAP-Ausscheidung und Ergometrie

Zur Beurteilung einer Abhängigkeit der Enzymurie der AAP von der körperlichen Belastung wurden die Ergebnisse aller

47 Ergometrien zusammengefaßt. Es zeigte sich folgendes Ergebnis:

Urin 1: $x=6,0 \pm 3,2$ U/g Crea

Urin 2: $x=5,9 \pm 3,1$ U/g Crea

Urin 3: $x=6,3 \pm 3,9$ U/g Crea

Hier blieb in allen drei Urinen der AAP-Wert im gleichen Bereich, so daß keine Abhängigkeit von der Belastung zu erkennen war.

AAP-Ausscheidung und Stoffwechseleinstellung

Um den Zusammenhang zwischen der Enzymurie der AAP und der Stoffwechseleinstellung zu überprüfen, wurden wieder die Gruppen der gut und schlecht eingestellten Diabetiker miteinander verglichen.

GSP $\leq 6,0$ nmol lys-glu/mg Prot.:

n=9

Urin 1: $x=4,8 \pm 2,4$ U/g Crea

Urin 2: $x=4,7 \pm 3,1$ U/g Crea

Urin 3: $x=5,1 \pm 2,9$ U/g Crea

GSP $\geq 8,0$ nmol lys-glu/mg Prot.:

n=8

Urin 1: $x=6,4 \pm 2,8$ U/g Crea

Urin 2: $x=6,3 \pm 2,9$ U/g Crea

Urin 3: $x=6,8 \pm 2,7$ U/g Crea

Dabei waren die Werte der schlecht eingestellten Diabetiker im Vergleich zu den gut eingestellten Patienten leicht erhöht. Ein statistisch signifikanter Unterschied bestand jedoch nicht.

6.6. Zusammenhang zwischen Enzymurie und Albuminurie

6.6.1. N-acetyl-glucosaminidase

Um einen genauen Zusammenhang zwischen der NAG-Ausscheidung und der Albuminurie herzustellen, wurden, mit dem Albumin im Urin 1 vor der körperlichen Belastung als Definitionskriterium, drei Gruppen gebildet und diese dann miteinander verglichen. Die Gruppe 1 zeigte dabei eine normale Albuminurie im Urin 1 unter 10 mg Alb/g Crea, die Gruppe 2 wies eine gering erhöhte Albuminausscheidung zwischen 10 und 30 mg Alb/g Crea auf und die Gruppe 3 waren Diabetiker mit stark erhöhten Albuminwerten über 30 mg Alb/g Crea. Dabei ergaben sich für die Enzymurie der NAG folgende Daten:

Gruppe 1: n=16 Albumin im Urin 1 < 10 mg/g Crea

Urin 1: $\bar{x}=5,2 \pm 1,9$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=5,8 \pm 2,2$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=5,7 \pm 3,6$ U/g Crea

Gruppe 2: n=21 Albumin im Urin 10 - 30 mg/g Crea

Urin 1: $\bar{x}=7,9 \pm 4,2$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=7,1 \pm 3,0$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=8,1 \pm 3,9$ U/g Crea

Gruppe 3: n=10 Albumin im Urin 1 > 30 mg/g Crea

Urin 1: $\bar{x}=10,2 \pm 3,9$ U/g Crea

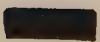
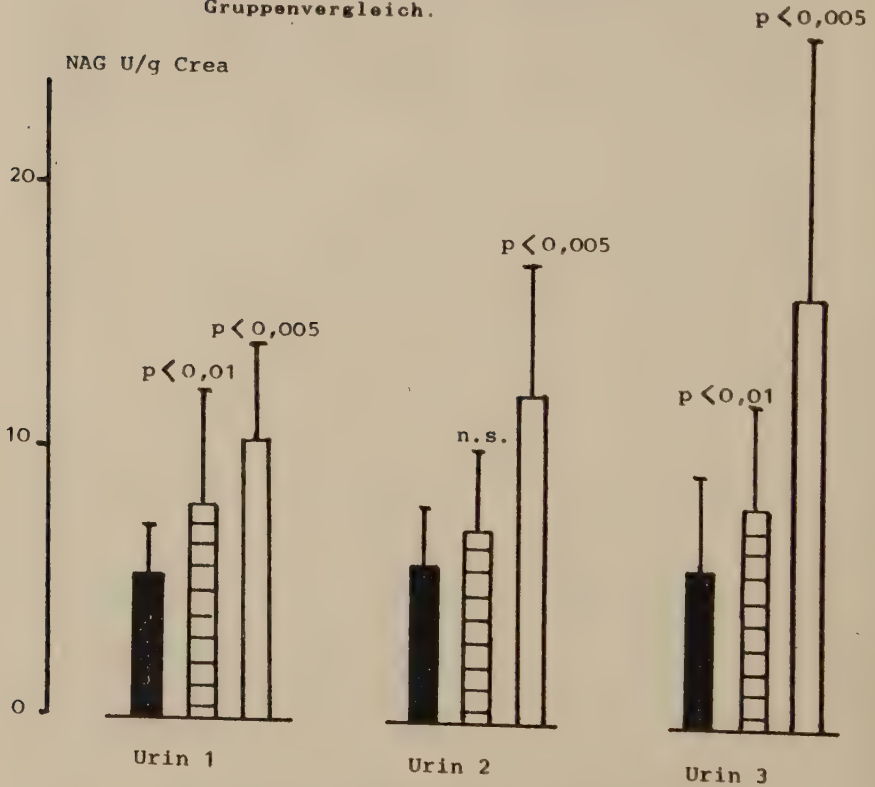
Urin 2: $\bar{x}=12,8 \pm 5,1$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=17,5 \pm 10,2$ U/g Crea

Statistisch wurden nun die NAG-Ausscheidungen der 3 Gruppen miteinander verglichen. Dazu wurde für die Urine 1, 2 und 3

jeweils der NAG-Wert der Gruppe 1 (Albumin < 10 mg/g Crea) als Vergleichsbasis verwendet und die Werte der beiden anderen Gruppen damit verglichen. Es errechneten sich für beide Gruppen statistisch signifikant höhere NAG-Werte im Urin als in der Gruppe mit normaler Albuminurie gefunden wurden. Dabei lagen die Signifikanzen zwischen $p < 0,01$ und $p < 0,005$. Die genauen Werte für p für die einzelnen Gruppenvergleiche können der Abbildung 5 entnommen werden.

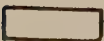
Abbildung 5: NAG-Werte im Urin bei n=47 Ergometrien, ermittelt bei 17 Typ-1-Diabetikern. Gruppeneinteilung nach Albuminwert im Urin 1 und Angabe der p-Werte für die Signifikanz des Anstiegs der NAG-Ausscheidung im Gruppenvergleich.



Gruppe 1: n=16 Alb. im Urin 1 < 10 mg/g Crea



Gruppe 2: n=21 Alb. im Urin 1 $10-30$ mg/g Crea



Gruppe 3: n=10 Alb. im Urin 1 > 30 mg/g Crea

6.6.2: Alanin-amino-peptidase

Für die Enzymurie der AAP wurde die Gruppeneinteilung wie bei der NAG vorgenommen. Es ergeben sich folgende Zusammenhänge mit der Albuminurie:

Gruppe 1: n=16 Albumin im Urin 1 < 10 mg/g Crea

Urin 1: $\bar{x}=4,8 \pm 2,4$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=5,0 \pm 2,2$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=4,2 \pm 2,6$ U/g Crea

Gruppe 2: n=21 Albumin im Urin 1 10 - 30 mg/g Crea

Urin 1: $\bar{x}=5,9 \pm 2,9$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=6,1 \pm 3,2$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=5,9 \pm 3,2$ U/g Crea

Gruppe 3: n=10 Albumin im Urin > 30 mg/g Crea

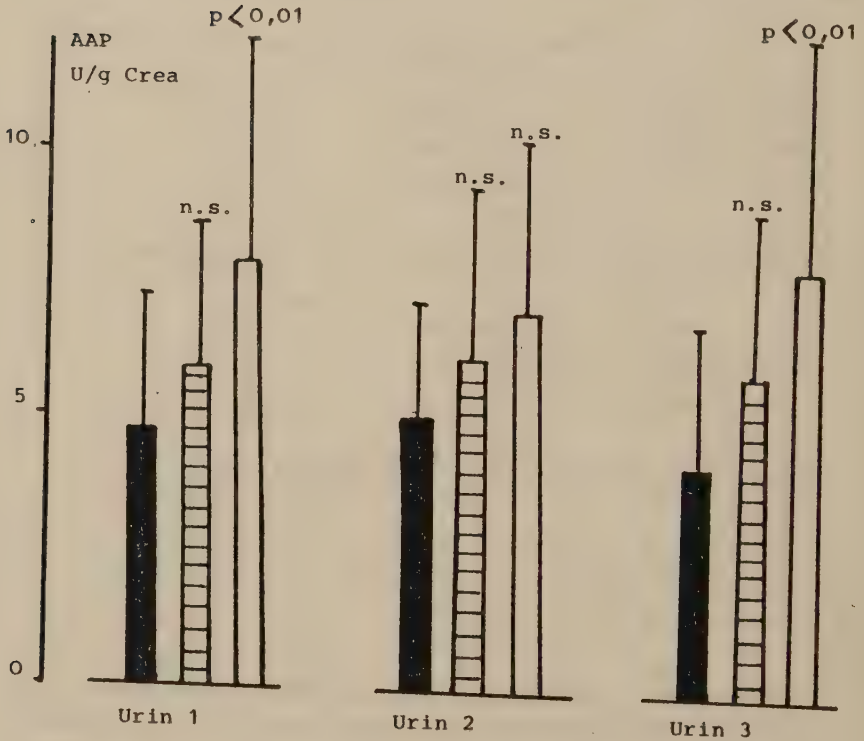
Urin 1: $\bar{x}=7,8 \pm 3,8$ U/g Crea

Urin 2: $\bar{x}=7,9 \pm 3,0$ U/g Crea

Urin 3: $\bar{x}=7,9 \pm 4,1$ U/g Crea

Auch hierbei wurde jeweils der AAP-Wert der Gruppe 1 als Vergleichsbasis verwendet, um einen statistischen Vergleich der drei Gruppen durchzuführen. Es zeigte sich eine erhöhte Ausscheidung der AAP bei erhöhter Albuminurie, eine Signifikanz konnte aber nur beim Vergleich der Gruppe 1 mit der Gruppe 3 errechnet werden ($p < 0,01$), während der Vergleich der Gruppe 1 und der Gruppe 2 statistisch nicht signifikant war. Siehe hierzu die Abbildung 6.

Abbildung 6: AAP-Werte bei n=47 Ergometrien von 17 Typ-1-Diabetikern. Gruppeneinteilung nach dem Albuminwert im Urin 1. Angabe der p-Werte für die Signifikanz des Anstiegs der AAP-Ausscheidung im Gruppenvergleich.



6.7. Vergleich zwischen konventioneller Insulintherapie (CIT) und kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion (CSII)

Im Rahmen dieser Studie wurden 7 Diabetiker mit CIT behandelt, 8 mit CSII. Bei zwei Patienten wurde die Art der Insulintherapie nach der II.Ergometrie von CSII auf CIT gewechselt.

Beide Gruppen unterschieden sich im Lebensalter und der Diabetesdauer. Das Alter bei den mit CIT behandelten Diabetikern betrug bei Beginn der Studie $37,0 \pm 8,2$ Jahre, das der CSII behandelten Patienten $29,2 \pm 9,3$ Jahre. Die Diabetesdauer betrug bei den mit CIT behandelten Diabetikern $20,1 \pm 12,6$ Jahre versus $12,0 \pm 6,8$ Jahre bei CSII. Siehe hierzu auch Tabellen 1 - 3.

Auch hinsichtlich der aktuellen Stoffwechseleinstellung zeigte sich ein deutlicher Unterschied. So fand sich bei den glucoylierten Serumproteinen eine mit $p < 0,005$ statistisch signifikant bessere Stoffwechseleinstellung der mit CSII behandelten Diabetiker.

CSII: GSP= $6,4 \pm 1,3$ nmol lys-glu/mg Prot.

CIT: GSP= $7,4 \pm 1,1$ nmol lys-glu/mg Prot.

Dagegen zeigte ein Vergleich der HbA_{1c}-Werte kein signifikant unterschiedliches Ergebnis.

CSII: HbA_{1c}= $8,3 \pm 2,6$ Prozent

CIT: HbA_{1c}= $8,3 \pm 1,6$ Prozent

Insgesamt wurden 25 Ergometrien bei Diabetikern durchgeführt, die mit CSII behandelt wurden, 22 bei Patienten mit CIT.

Mikroalbuminurie

Die vier Diabetiker mit konstant erhöhter Albuminausscheidung wurden aus den Berechnungen herausgelassen. Der Patient L.S. wurde dabei mit CSII therapiert, während die drei anderen Diabetiker (P.B., P.M. und S.E.) konventionell behandelt wurden.

Es fanden sich folgende Ergebnisse für 22 Ergometrien mit CSII und für 13 Ergometrien unter CIT:

CSII: Urin 1: $x=11,9 \pm 10,1$ mg Alb/g Crea
 Urin 2: $x=21,6 \pm 33,5$ mg Alb/g Crea
 Urin 3: $x=19,3 \pm 19,5$ mg Alb/g Crea

CIT: Urin 1: $x=11,6 \pm 4,6$ mg Alb/g Crea
 Urin 2: $x=16,8 \pm 8,1$ mg Alb/g Crea
 Urin 3: $x=18,5 \pm 11,9$ mg Alb/g Crea

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Albuminurie der CIT und CSII behandelten Diabetiker. Dabei zeigte sich sogar ein höherer Mittelwert bei den CSII behandelten Patienten. Dies wurde aber nur durch die Patientin D.F. bewirkt, da ohne sie die Werte genau im Bereich der CIT behandelten Diabetiker lagen (Urin 1: $11,6 \pm 9,7$ mg Alb/g Crea; Urin 2: $11,4 \pm 9,7$ mg Alb/g Crea; Urin 3: $17,4 \pm 13,1$ mg Alb/g Crea).

Erwähnenswert ist das Ergebnis der Betrachtung der Albuminurie während des einjährigen Beobachtungszeitraums. Dabei zeigte sich im Urin 1 vor der körperlichen Belastung für die Gruppe der mit CSII behandelten Diabetiker eine mit $p < 0,01$ signifikante Verbesserung der Albuminausscheidung in

den 6 Monaten nach Beginn der Studie. In den folgenden 6 Monaten fand sich nur noch ein geringer Abfall der Albuminurie.

Für die Gruppe der mit CIT behandelten Patienten konnte dieses Ergebnis nicht gefunden werden.

Die Meßwerte lagen dabei wie folgt, wobei die beiden Diabetiker mit Änderungen der Therapieform von CSII auf CIT nicht beinhaltet sind.

CSII:

0.Monat: $x=16,2 \pm 15,8$ mg Alb/g Crea
 6.Monat: $x=9,0 \pm 4,4$ mg Alb/g Crea
 12.Monat: $x=8,6 \pm 2,3$ mg Alb/g Crea

CIT:

0.Monat: $x=10,2 \pm 2,3$ mg Alb/g Crea
 6.Monat: $x=11,1 \pm 5,1$ mg Alb/g Crea
 12.Monat: $x=13,8 \pm 4,3$ mg Alb/g Crea

Enzymurie der NAG

Für die N-acetyl-glucosaminidase errechnete sich bei 25 Ergometrien unter kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion folgendes Ergebnis:

Urin 1: $x=7,5 \pm 4,8$ U/g Crea
 Urin 2: $x=7,1 \pm 5,7$ U/g Crea
 Urin 3: $x=7,1 \pm 5,0$ U/g Crea

Für 22 Ergometrien mit CIT ergaben sich folgende Daten:

Urin 1: $x=8,7 \pm 3,9$ U/g Crea
 Urin 2: $x=9,3 \pm 3,8$ U/g Crea
 Urin 3: $x=12,0 \pm 8,4$ U/g Crea

Dabei zeigte sich eine deutlich niedrigere NAG-Ausscheidung bei den mit CSII behandelten Diabetikern. Statistisch signifikant war dies jedoch nicht.

Die Betrachtung der Enzymurie während des einjährigen Beobachtungszeitraums, wobei wiederum die zwei Patienten M.E. und O.T. nicht mit einbezogen wurden, ergab folgendes Ergebnis:

CSII: 8 Diabetiker, jeweils Urin 1 vor der Ergometrie

0.Monat: $x = 7,8 \pm 4,8$ U/g Crea

6.Monat: $x = 4,9 \pm 1,1$ U/g Crea

12.Monat: $x = 11,8 \pm 6,1$ U/g Crea

CIT: 7 Diabetiker, jeweils Urin 1 vor der Ergometrie

0.Monat: $x = 8,4 \pm 3,3$ U/g Crea

6.Monat: $x = 8,8 \pm 3,6$ U/g Crea

12.Monat: $x = 8,3 \pm 4,6$ U/g Crea

Im Vergleich zwischen der NAG-Ausscheidung bei CSII und CIT fand sich kein signifikanter Unterschied. Auch zeigte sich innerhalb der jeweiligen Gruppen keine Verbesserung der Enzymurie, wobei vor allem bei den mit CSII behandelten Diabetikern große Wertschwankungen innerhalb des Beobachtungsjahres gefunden wurden.

Enzymurie der AAP

Für die Alanin-amino-peptidase ergaben sich bei 25 Ergometrien bei Diabetikern, die mit CSII behandelt wurden, folgende Daten:

Urin 1: $x=5,2 \pm 2,5$ U/g Crea

Urin 2: $x=5,2 \pm 2,7$ U/g Crea

Urin 3: $x=6,2 \pm 4,1$ U/g Crea

Bei 22 Ergometrien unter konventioneller Insulintherapie ergaben sich folgende Ergebnisse:

Urin 1: $x=6,3 \pm 3,5$ U/g Crea

Urin 2: $x=6,7 \pm 3,2$ U/g Crea

Urin 3: $x=6,1 \pm 4,3$ U/g Crea

Im Mittel fanden sich etwas höhere Werte bei den konventionell behandelten Patienten, was sich aber nicht in einer statistischen Signifikanz ausdrückte.

Im einjährigen Beobachtungszeitraum zeigte sich in beiden Gruppen eine nicht signifikante Tendenz zur Verringerung der AAP-Ausscheidung.

CSII: 8 Diabetiker, AAP im Urin 1 vor der Ergometrie

0.Monat: $x=6,4 \pm 1,0$ U/g Crea

6.Monat: $x=6,0 \pm 2,7$ U/g Crea

12.Monat: $x=3,4 \pm 1,7$ U/g Crea

Der Abfall der AAP-Ausscheidung in den 6 Monaten nach Beginn der Studie war nicht statistisch signifikant. Dagegen war für die 5 Diabetiker, die auch nach 12 Monaten noch einmal untersucht wurden, die Verringerung zwischen dem Beginn und dem Ende des Beobachtungsintervalls mit $p < 0,01$ signifikant.

CIT: 7 Diabetiker, AAP-Ausscheidung im Urin 1 vor der Ergometrie

0.Monat: $x=8,1 \pm 4,2$ U/g Crea
 6.Monat: $x=6,8 \pm 3,7$ U/g Crea
 12.Monat: $x=5,8 \pm 2,4$ U/g Crea

Die Verringerung der AAP-Ausscheidung in den ersten sechs Monaten der Studie war nicht signifikant. Für die 6 Diabetiker, die bei Abschluß der Studie nach 12 Monaten noch einmal untersucht wurden, zeigte sich im Vergleich zu den Ausgangswerten der AAP im Urin eine mit $p < 0,05$ signifikant niedrigere Ausscheidung.

Wie auch schon bei den Berechnungen zur Albuminurie und zur Enzymurie der NAG wurden auch bei den Betrachtungen für die AAP-Ausscheidungen die beiden Patienten M.E. und O.T., bei denen die Art der Insulintherapie von CSII auf CIT geändert wurde, nicht mit einbezogen.

6.8. Ergebnisse der Blutparameter

6.8.1 Glukose

Bei allen 47 Ergometrien wurde die Blutglukose jeweils sechsmal gemessen. Die beiden Werte vor der ergometrischen Belastung wurden zu einem Mittelwert zusammengefaßt, so daß sich für jede Ergometrie fünf Meßwerte ergaben. Von den insgesamt 235 Werten war der niedrigste Glucosewert 45 mg/dl, der höchste Wert lag bei 324 mg/dl.

0` vor der Belastung	$x=163 \pm 66$ mg/dl
10` nach 10minütiger Belastung	$x=152 \pm 59$ mg/dl
20` am Ende der Belastung	$x=129 \pm 55$ mg/dl
50` nach 30minütiger Erholung	$x=117 \pm 54$ mg/dl
80` nach einstündiger Erholung	$x=111 \pm 51$ mg/dl

Die Blutglukose fiel kontinuierlich während der körperlichen Belastung und in der anschließenden Ruhephase. Dabei war der Abfall im Zeitraum von 0` bis 20` während der Ergometrie mit $p < 0,01$ signifikant, ebenso in der Erholung im Zeitraum von 20` bis 80`.

Gut eingestellte Diabetiker erreichten am Versuchsende bereits Glukosewerte, die die Gefahr einer Hypoglycämie induzierten.

Es wurden insgesamt 11 Ergometrien durchgeführt, bei denen Blutzuckerwerte unter 70 mg/dl am Versuchsende erreicht wurden, in vier Fällen fiel die Glukose sogar unter 50 mg/dl. In keinen dieser Fälle verspürten die Patienten aber Symptome einer beginnenden Hypoglycämie, so daß auch kein Ergometrieversuch vorzeitig abgebrochen werden mußte. Der Ausgangswert des Blutzuckers für diese 11 Ergometrien lag bei 117 ± 47 mg/dl.

Erwähnenswert ist die Tatsache, daß von diesen 11 Ergometrien neun unter einer kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion durchgeführt wurden. Daher wurden auch die Blutzuckerwerte für die mit CSII und CIT behandelten Diabetiker getrennt berechnet. Es zeigte sich folgendes Ergebnis:

CSII: n=25

0` : $x=141 \pm 58$ mg/dl

10` : $x=131 \pm 52$ mg/dl

20` : $x=112 \pm 49$ mg/dl

50` : $x=100 \pm 52$ mg/dl

80` : $x=99 \pm 45$ mg/dl

CIT: n=22

0` : $x=188 \pm 60$ mg/dl
 10` : $x=176 \pm 56$ mg/dl
 20` : $x=152 \pm 54$ mg/dl
 50` : $x=133 \pm 52$ mg/dl
 80` : $x=126 \pm 57$ mg/dl

Es zeigte sich zu jedem Zeitpunkt des Versuchsablaufes ein deutlich höherer Glukosewert für die konventionell behandelten Diabetiker. Signifikant war dieser Unterschied aber nicht.

6.8.2. Freies Insulin

Bei den 47 Ergometrien wurden jeweils 5 Werte für das freie Insulin bestimmt. Es ergab sich ein Wertebereich von 3 uU/ml bis 154 uU/ml. Dabei lag der Mittelwert für alle Versuche annähernd gleichbleibend bei 40 uU/ml ohne eine Abhängigkeit von der körperlichen Belastung aufzuweisen. Es errechneten sich folgende Mittelwerte und Standardabweichungen:

0` : 44 ± 23 uU/ml vor der ergometrischen Belastung
 10` : 41 ± 23 uU/ml nach 10minütiger Ergometrie
 20` : 41 ± 25 uU/ml am Ende der Ergometrie
 50` : 42 ± 23 uU/ml nach 30 min Erholung
 80` : 41 ± 26 uU/ml nach 1 Stunde Erholung

Bei den 11 Ergometrien, die zum Schluß des Versuches bereits Blutzuckerwerte unter 70 mg% aufwiesen, lag der Meßwert für das freie Insulin etwas höher. Es errechnete sich bei einer Standardabweichung zwischen 18 - 21 uU/ml folgender Verlauf. Bei 0' 52 uU/ml, Anstieg während der Ergometrie auf 55 uU/ml, dann wieder Abfall auf 48 uU/ml. Dies zeigte, daß besonders die Diabetiker mit hohen

Insulinspiegeln bei guter Stoffwechseleinstellung gefährdet sind, in eine Hypoglycämie bei körperlicher Belastung zu kommen. Ein Vergleich der Insulinspiegel im Blut bei gut eingestellten Diabetikern (GSP $\leq$ 6,0 nmol lys-glu/mg Prot.) und schlecht eingestellten Diabetikern (GSP $\geq$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot.) erbrachte deutlich höhere Insulinwerte bei guter Stoffwechseleinstellung. Statistisch signifikant war dies aber nur am Ende des Versuchs bei 80 Minuten. Die Meßwerte für das freie Insulin sind im folgenden aufgeführt.

GSP $\leq$ 6,0 nmol lys-glu/mg Prot n=9:

0` x=54 +/- 17 uU/ml
 10` x=54 +/- 19 uU/ml
 20` x=58 +/- 19 uU/ml
 50` x=54 +/- 18 uU/ml
 80` x=51 +/- 15 uU/ml

GSP $\geq$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot n=8:

0` x=39 +/- 14 uU/ml
 10` x=39 +/- 14 uU/ml
 20` x=34 +/- 13 uU/ml
 50` x=37 +/- 17 uU/ml
 80` x=28 +/- 13 uU/ml

Inwieweit sich auch zwischen der konventionellen Therapie und der kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion ein Unterschied des Insulinspiegels zeigte, wurde ebenfalls untersucht. Dabei war das freie Insulin vor der körperlichen Belastung CSII 41 +/- 20 uU/ml versus CIT 48 +/- 25 uU/ml, am Ende der Ergometrie CSII 41 +/- 24 uU/ml versus CIT 42 +/- 26 uU/ml und nach einer Stunde Erholung CSII 38 +/- 19 uU/ml versus CIT 46 +/- 31 uU/ml. Statistisch waren diese nur geringen Unterschiede nicht signifikant. Sehr

interessant ist in diesem Zusammenhang, daß sich bei den CSII behandelten Diabetikern kein Anstieg des freien Insulins während der ergometrischen Belastung fand, obwohl die kontinuierliche Insulinzufuhr nicht unterbrochen wurde. Die Insulinwerte lagen konstant im gleichen Niveau mit ebenfalls gleichbleibender Standardabweichung (0': 41 +/- 20 uU/ml; 10': 39 +/- 21 uU/ml; 20': 41 +/- 24 uU/ml; 50': 40 +/- 21 uU/ml; 80': 38 +/- 19 uU/ml).

6.8.3. Freie Fettsäuren

Die gemessenen freien Fettsäuren der 17 Typ-1-Diabetiker lagen bei den 47 Ergometrien mit jeweils 5 Messungen in einem Wertebereich von 0,02 mEq/l bis 3,5. mEq/l. wobei für das Testsystem der Firma Wako Chemicals GmbH einen Normbereich zwischen 0,1 und 0,6 mEq/l angegeben wird. Die Mittelwerte für alle Ergometrien zeigten einen Anstieg der freien Fettsäuren während der körperlichen Belastung, der mit $p < 0,005$ auch statistisch signifikant war. Der Abfall der freien Fettsäuren im Blut während der einstündigen Erholung nach der Ergometrie war ebenfalls mit $p < 0,01$ statistisch signifikant. Das genaue Ergebnis der freien Fettsäuren ist im folgenden aufgeführt.

0': 0,60 +/- 0,54 mEq/l vor der körperlichen Belastung
 10': 0,99 +/- 0,81 mEq/l nach 10minütiger Ergometrie
 20': 1,01 +/- 0,84 mEq/l am Ende der Ergometrie
 50': 0,78 +/- 0,68 mEq/l nach halbstündiger Erholung
 80': 0,73 +/- 0,59 mEq/l nach 1 Stunde Erholung

Eine Unterscheidung hinsichtlich der Stoffwechseleinstellung erbrachte für die gut eingestellten Diabetiker mit GSP $\leq 6,0$ nmol lys-glu/mg Prot deutlich niedrigere Werte für die freien Fettsäuren im Vergleich zu den

schlecht eingestellten Diabetikern mit GSP $\geq 8,0$ nmol lys-glu/mg Prot. Statistisch signifikant waren diese Unterschiede aber nicht, da sich für beide Gruppen zu jedem Zeitpunkt weite Meßbereiche ergaben. Diese sind bei den aufgeführten Verläufen der freien Fettsäuren mitangegeben.

GSP $\leq 6,0$ nmol lys-glu/mg Prot n=9

0': 0,31 +/- 0,21 mEq/l	Meßwerte von 0,08 bis 0,76 mEq/l
10': 0,66 +/- 0,56 mEq/l	
20': 0,66 +/- 0,55 mEq/l	von 0,14 bis 1,81 mEq/l
50': 0,43 +/- 0,29 mEq/l	
80': 0,45 +/- 0,22 mEq/l	von 0,14 bis 0,73 mEq/l

GSP $\geq 8,0$ nmol lys-glu/mg Prot n=8

0': 0,90 +/- 0,83 mEq/l	Meßwerte von 0,15 bis 2,27 mEq/l
10': 1,19 +/- 0,74 mEq/l	
20': 1,11 +/- 0,81 mEq/l	vom 0,17 bis 2,76 mEq/l
50': 1,02 +/- 0,69 mEq/l	
80': 0,93 +/- 0,44 mEq/l	von 0,40 bis 1,65 mEq/l

Der Vergleich der Gruppen mit konventioneller Insulintherapie und kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion erbrachte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Zu Beginn des Versuches vor der körperlichen Belastung war das Ergebnis der freien Fettsäuren CSII 0,54 +/- 0,62 mEq/l versus 0,69 +/- 0,42 mEq/l bei CIT. Es zeigte sich nach 20minütiger Ergometrie ein annähernd gleicher Anstieg mit CSII 0,95 +/- 0,81 mEq/l versus CIT 1,09 +/- 0,88 mEq/l. auch der Abfall der freien Fettsäuren während der Erholung zeigte keinen Unterschied mit CSII 0,72 +/- 0,59 mEq/l versus CIT 0,78 +/- 0,61 mEq/l. Die Art der Behandlung der Diabetiker, ob CSII oder CIT, hatte also keinen Einfluß auf die Werte der freien Fettsäuren im Blut.

6.8.4. Laktat

Wie bei allen vorangegangenen Blutparametern wurde auch beim Laktat im Blut bei jeder der 47 Ergometrien 5 Messungen durchgeführt. Es fand sich ein Bereich der Meßwerte, der von 0,3 mmol/l bis 12,8 mmol/l reichte. Die Mittelwerte und Standardabweichungen des Laktats aller Ergometrien wurden wie folgt ermittelt:

0':	1,4 +/- 0,6 mmol/l	vor der körperlichen Belastung
10':	2,8 +/- 1,9 mmol/l	nach 10minütiger Ergometrie
20':	3,2 +/- 2,4 mmol/l	am Ende der Ergometrie
50':	1,6 +/- 1,2 mmol/l	nach 30minütiger Erholung
80':	1,4 +/- 0,8 mmol/l	nach 1 Stunde Erholung

Der Anstieg des Laktatspiegels während der Ergometrie war mit $p < 0,005$ statistisch signifikant, ebenso der Abfall auf das Ausgangsniveau während der Erholung. Es zeigte sich also eine deutliche Abhängigkeit des Laktatspiegels von der körperlichen Belastung. Da es sehr steile Anstiege des Laktats während der Ergometrie gab (bis 12,8 mmol/L), wurde auch untersucht, unter welchen Bedingungen es zu solch starken Anstiegen kam. Es zeigte sich, daß diese starken Anstiege bei Diabetikern mit schlechter Stoffwechseleinstellung gehäuft auftraten, während die gut eingestellten Diabetiker niedrigere Laktatwerte aufwiesen. Die Laktatverläufe für die gut eingestellten Diabetiker mit GSP $\leq 6,0$ nmol lys-glu/mg Prot und die schlecht eingestellten Diabetiker mit GSP $\geq 8,0$ nmol lys-glu/mg Prot zeigen vor der Belastung, während der Ergometrie und am Ende der Erholungsphase einen statistisch signifikanten Unterschied mit $p < 0,01$. Die Laktatwerte dieser beiden Gruppen lauteten:

GSP $\leq$ 6,0 nmol lys-glu/mg Prot n=9

0': 1,0 $\pm$ 0,4 mmol/l
 10': 1,7 $\pm$ 0,6 mmol/l
 20': 1,6 $\pm$ 0,6 mmol/l
 50': 0,9 $\pm$ 0,5 mmol/l
 80': 0,9 $\pm$ 0,4 mmol/l

GSP $>$ 8,0 nmol lys-glu/mg Prot n=8

0': 1,8 $\pm$ 0,6 mmol/l
 10': 3,6 $\pm$ 0,7 mmol/l
 20': 4,2 $\pm$ 1,3 mmol/l
 50': 1,9 $\pm$ 1,0 mmol/l
 80': 1,6 $\pm$ 0,7 mmol/l

Der Vergleich der beiden Gruppen mit konventioneller Insulintherapie und kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion erbrachte keine signifikanten Unterschiede. Vor der körperlichen Belastung errechnete sich ein gleich hoher Laktatwert mit CSII 1,3 $\pm$ 0,7 mmol/l versus CIT 1,4 $\pm$ 0,6 mmol/l. Der Anstieg während der Ergometrie ergab einen höheren Anstieg bei den konventionell behandelten Diabetikern mit CSII 2,4 $\pm$ 1,2 mmol/l versus CIT 3,9 $\pm$ 2,9 mmol/l, der statistisch nicht signifikant war. Nach einstündiger Erholung wurde ein beiden Gruppen wieder das Ausgangsniveau erreicht: CSII 1,3 $\pm$ 0,8 mmol/l versus CIT 1,6 $\pm$ 0,8 mmol/l. Der Laktatwert im Blut wurde also nur gering von der Art der Behandlung beeinflusst.

7. Diskussion der Ergebnisse

7.1. Kreislaufparameter und Serumbestimmungen

Alle an dieser Studie teilnehmenden Patienten zeigten in Ruhe Kreislaufparameter, die im Normbereich lagen. Der Anstieg der Pulsfrequenz und des systolischen Blutdruckes während der 20minütigen Belastungsphase entsprach einer mittleren Dauerbelastung, wobei kein Proband gezwungen war, einen Versuch vorzeitig abubrechen, obwohl der individuelle Trainingszustand nicht berücksichtigt wurde. Bei 14 Ergometrien wurden maximale systolische Blutdruckwerte über 180 mmHg gemessen, was für diese Belastung einer hypertensiven Kreislaufregulation entsprach. Ein manifester Hypertonus, der über eine Schädigung der renalen Arteriolen und der Glomeruli zu einer Proteinurie führen kann (72, 73), konnte ausgeschlossen werden, da alle Diabetiker in Ruhe einen systolischen Blutdruckwert unter 140 mmHg aufwiesen und auch bei den regelmäßigen Kontrollen in der Diabetikerambulanz keine erhöhten Werte gemessen wurden.

Die Bestimmung der Serumparameter erbrachte in den meisten Fällen Normalwerte. Das Eiweiß im Serum und die Nierenparameter Kreatinin und Harnstoff ergaben keinen Hinweis auf eine bestehende Einschränkung der Nierenfunktionen.

Die Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR), die aus dem Urin während der Ruhephase vor der körperlichen Belastung durchgeführt wurde, ergab einen Mittelwert von 143 ml/min, wobei aber ein großer Meßbereich gefunden wurde. Die unter der Normgrenze von 80 ml/min liegende GFR der Patientin D.R. muß nicht Ausdruck einer Einschränkung der Nierenfunktion durch den Diabetes sein, sondern kann aufgrund des Alters von 53 Jahren auch als altersbedingte Reduzierung der GFR gesehen werden.

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist der Fläche der Basalmembran proportional und fällt bei Verminderung der Fläche bei Ausfall der Glomeruli. Auch die Durchlässigkeit der Basalmembran beeinflusst die GFR, wobei eine Ablagerung von Substanzen in der Membran, wie dies beim Diabetes mellitus vorkommt, die Durchlässigkeit für Proteine steigern kann. Weiterhin hat auch die Druckdifferenz zwischen den Kapillaren und dem glomerulären Kapselraum eine entscheidende Bedeutung für die GFR. Wichtig dabei ist die Eiweißkonzentration und somit der kolloidosmotische Druck in den Kapillaren. Durch den Filtrationsprozeß steigt die Eiweißkonzentration und somit der kolloidosmotische Druck in den Kapillaren so lange, bis die hydrostatische Druckdifferenz in den Glomeruli erreicht wird und die Filtration zum Stillstand kommt (74). Im Filtrationsgleichgewicht und bei konstanter hydrostatischer Druckdifferenz ist die glomeruläre Filtrationsrate der renalen Durchblutung proportional.

Verschiedene Veröffentlichungen beschreiben bei Typ-1-Diabetikern eine gesteigerte glomeruläre Filtrationsrate (75, 76, 77). Christiansen und Mitarbeiter (75) führten als Gründe für die gesteigerte GFR einen erhöhten renalen Plasmafluß (RPF), einen gesteigerten transglomerulären hydrostatischen Druckgradienten und eine erhöhte glomeruläre Ultrafiltration an. Sie fanden dabei für die Typ-1-Diabetiker eine GFR von 144 ml/min. Dieser Wert entspricht genau dem im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten Wert (143 ml/min).

Auch stark erhöhte Werte für die glomeruläre Filtrationsrate, wie in verschiedenen Arbeiten beschrieben (75, 78), wurden bei 2 Patientinnen gefunden. Die errechneten Werte lagen dabei zwischen 230 und 255 ml/min.

7.2. HbA₁ und glucosylierte Serumproteine

Das HbA₁ und die glucosylierten Serumproteine werden zur Langzeitbeurteilung der Stoffwechseleinstellung beim Diabetes mellitus verwendet. Am HbA₁ und später auch an anderen Eiweißen des Körpers (Augenlinse, Erythrocytenmembran, Serumalbumin) konnte gezeigt werden, daß Glukose nicht-enzymatisch mit Eiweißen reagieren kann (79). Das HbA₁ und die GSP sind beim Diabetes häufig erhöht und korrelieren positiv mit der Stoffwechseleinstellung (80, 81, 82).

Dabei müssen aber die unterschiedlich langen Beurteilungszeiträume beachtet werden. Der HbA₁-Wert ist bestimmt durch die Überlebenszeit der Erythrocyten, die bei 120 Tagen liegt. Dagegen haben die glucosylierten Serumproteine eine Halbwertszeit von 10 - 20 Tagen, so daß damit die Stoffwechseleinstellung für einen aktuellen kürzeren Zeitraum beurteilt wird.

Schleicher und Mitarbeiter (65) untersuchten den klinischen Parameter des HbA₁ und der GSP und verglichen dabei beide Parameter miteinander. Sie kamen dabei zu folgenden Ergebnissen. Es findet sich eine bessere Korrelation der GSP mit der mittleren Blutglukose bei hyperglycämischen Zuständen im Vergleich zum HbA₁; ein normales HbA₁ zeigt nicht notwendigerweise eine Normoglycämie an; durch die kürzere Halbwertszeit folgt der GSP-Wert schneller den Änderungen der Blutglukose.

In der vorliegenden Arbeit fand sich zwischen den Meßwerten des HbA₁ und der GSP eine positive Korrelation mit $p < 0,001$, wobei aber auffällig ist, daß kein GSP-Wert im Normalbereich bei 3,5 nmol lys-glu/mg Prot. liegt, während 60

Prozent der HbA_{1c}-Werte im Normalbereich bis 8,2 Prozent liegen.

Dieses Ergebnis und die Daten der Literatur zeigen einige Vorteile der glucosylierten Serumproteine im Vergleich zum HbA_{1c}, die auch für diese Arbeit wichtig sind. Die Gruppeneinteilungen hinsichtlich der Stoffwechseleinstellungen bei Betrachtung der Albuminurie und der Enzymurie wurden daher mit den glucosylierten Serumproteinen als Definitivskriterium durchgeführt.

7.3. Albumin im Urin

Der glomeruläre Filter der Niere läßt alle im Plasma gelösten Stoffe mit einem Molekülradius von kleiner 1,8 nm und einem Molekulargewicht von unter 15 000 frei hindurch, Stoffe mit einem Radius größer 4,4 nm und einem Molekulargewicht von über 80 000 sind normalerweise nicht filterbar (83, 84). Das Albumin mit einem Molekülradius von 3,5 nm und einem Molekulargewicht von ungefähr 60 000 wird nur zu etwa 0,03 Prozent filtriert (85). Außer dem Molekülradius und dem Molekulargewicht ist ein entscheidender Grund für die nur sehr geringe Filtration des Albumins darin zu sehen, daß das Albumin im Serum negativ geladen ist und negative Wandladungen in der Basalmembran Anionen schwerer passieren lassen. Rennke und Mitarbeiter (86) konnten eine unterschiedliche Filtration von Molekülen gleicher Größe, aber verschiedener elektrischer Ladungen, nachweisen. Die mehrfach negativ geladene glomeruläre Basalmembran verlangsamt dabei die Filtration ebenfalls negativ geladener Moleküle. So sind neben der Porengröße des glomerulären Filters die negativen Ladungen der Basalmembran und der Plasmaproteine von entscheidender Bedeutung für die Durchlässigkeit der Glomeruli.

Der Anteil des Albumins, der bei intakter Basalmembran filtriert wird, wird im Bereich der proximalen Tubuluszelle fast vollständig rückresorbiert, wobei Prozentangaben bis 97 Prozent genannt werden (87). Diese tubuläre Rückresorption ist energieabhängig und beruht auf einer Endocytose des Proteins an der Bürstensaummembran der proximalen Tubuluszelle (88, 89). Genaue Angaben wie hoch die Proteinkonzentration im Glomerulumfiltrat ist und somit auch wieviel Eiweiß am Tag filtriert wird, konnten noch nicht gemacht werden. Albuminmessungen bei Ratten ergaben einen großen Bereich zwischen 3 und 200 $\mu\text{g/ml}$ (90 91). Mogensen und Mitarbeiter (92) berichten von einer Albuminausscheidung zwischen 500 und 600 mg/Tag bei gesunden Probanden, bei denen die tubuläre Rückresorption des Albumins durch Infusion von Lysin vollständig gehemmt wurde.

Als normal kann eine Proteinurie unter 150 mg/d nach der Biuret-Methode angesehen werden, wobei der Albuminanteil bei 12 - 20 Prozent liegt, so daß eine Albuminurie unter 30 mg/g Crea als Normalbereich anzusehen ist (93). In der vorliegenden Arbeit wurde der Albumingehalt auf das Kreatinin im Urin bezogen und ein Grenzwert von 10 $\text{mg Albumin/g Kreatinin}$ angegeben. Dies entspricht bei einer Urinmenge von 2 - 2,5 l/d und einem Kreatinin bis ungefähr 1 g/l einer täglichen Albuminausscheidung von etwa 20 mg/d .

Von den 17 Typ-1-Diabetikern zeigten während des Beobachtungszeitraumes von einem Jahr 13 Patienten im Mittel eine wechselnde, reversible und daher möglicherweise funktionelle Mikroalbuminurie, während vier Patienten konstant deutlich erhöhte Albuminwerte im Urin aufwiesen.

Die Gruppe der 13 Diabetiker mit einer wechselnden Mikroalbuminurie erbrachte während der einjährigen Beobachtung bei annähernd gleichbleibender Stoffwechseleinstellung keine

signifikante Veränderung bei der Albuminausscheidung vor, während und nach der ergometrischen Belastung.

Bei Betrachtung von einzelnen Patienten dagegen fand sich bei einigen Diabetikern ein deutlicher Abfall der Mikroalbuminurie im Beobachtungszeitraum bei gleichzeitiger Besserung der Stoffwechseleinstellung (Diabetikerinnen D.R., F.H.). Andere Patienten zeigten eine im einzelnen sehr variable Streuung der Albuminwerte, wobei die Änderungen im Beobachtungszeitraum oft nur minimal waren.

Die vier Diabetiker mit konstant erhöhter Albuminausscheidung zeigten ebenfalls eine Abhängigkeit der Albuminurie von der Stoffwechseleinstellung. Bei guter Stoffwechsellage konnte eine Verringerung der Albuminausscheidung beobachtet werden (Patienten L.S., S.E.), wobei aber zu keinem Zeitpunkt eine Normalisierung der pathologischen Albuminurie gefunden wurde.

Diese Ergebnisse lassen die Folgerung zu, daß bei 13 Diabetikern dieser Studie die Mikroalbuminurie reversibel und möglicherweise funktionell ist, bedingt durch eine schlechte Stoffwechselsituation, während bei den vier anderen Patienten bereits morphologische Veränderungen der Niere vorzuliegen scheinen, die auch langfristig nicht mehr reversibel sind. Die Albuminausscheidung dieser vier Diabetiker liegt in einem Bereich, der in verschiedenen Arbeiten als ein deutliches Symptom beschrieben wird, das auf ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer diabetischen Nephropathie hinweist (17, 18, 19). Viberti und Mitarbeiter (17) fanden in einer Verlaufskontrolle an 63 Typ-1-Diabetikern mit einer Mikroalbuminurie, d.h. einer Albuminausscheidung unter 200 mg/d, daß eine deutlich über den Normbereich liegende Mikroalbuminurie von 30 - 40 µg/min (entspricht ungefähr einer Ausscheidung von 40 - 200 mg/24 h) für den Patienten mit einem erhöhten Risiko einhergeht,

eine manifeste Nephropathie mit einer klinischen Proteinurie zu entwickeln. Auch Mogensen und Mitarbeiter (18) und Mathiesen und Mitarbeiter (19) kamen zu den gleichen Ergebnissen, wobei sich nur die Zahlenwerte der Mikroalbuminurie leicht voneinander unterschieden.

Der direkte Einfluß der körperlichen Belastung auf die Mikroalbuminurie wurde in vielen Arbeiten untersucht. Einige Autoren wählten die Fahrradergometrie als geeignetes Mittel, frühe Nierenveränderungen aufzudecken und fanden einen Anstieg der Albuminausscheidung während der körperlichen Belastung (30, 31, 33, 34, 35, 94). Andere Arbeiten kamen zu einem gegenteiligen Ergebnis und fanden keinen Anstieg der Albuminurie bei der Ergometrie (38, 37). In der Zusammenstellung aus Seite 72 sind Arbeiten aufgeführt, die den Einfluß der körperlichen Belastung auf die Albuminausscheidung untersucht haben.

Die vorliegenden Ergebnisse erbrachten für die 35 Ergometrien der 13 Typ-1-Diabetiker mit wechselnder funktioneller Mikroalbuminurie einen nicht signifikanten Anstieg der Albuminausscheidung während der 20minütigen Belastung im Mittel von 11,9 auf 19,7 mg/g Crea. In der Ruhephase nach der Ergometrie fand sich eine gleichbleibende Mikroalbuminurie von 19,4 mg/g Crea. Auch bei den 12 Ergometrien der vier Diabetiker mit konstant erhöhter Albuminausscheidung fand sich im Mittel ein Anstieg während der körperlichen Belastung von 58,0 auf 76,9 mg/g Crea und in der anschließenden Ruhephase ein weiterer Anstieg auf 87,0 mg/g Crea. Insgesamt wiesen von den 47 Ergometrien 28 (= 59 Prozent) während der Belastung einen Anstieg der Mikroalbuminurie auf, der aber zum Teil nur sehr gering war. Trotz fehlender statistischer Signifikanz schien ein deutlicher Einfluß der körperlichen Belastung auf die Albuminausscheidung vorhanden zu sein. Von den 35 Ergometrien

der Diabetiker mit funktioneller Mikroalbuminurie wiesen bereits vor der Belastung 19 im Ruheurin eine über den Normwert von 10 mg/g Crea erhöhten Albumingehalt auf. Die Ausgangswerte der übrigen 16 Ergometrien lagen unter diesem Grenzwert, im Mittel bei 6,3 mg/g Crea. Bei diesen 16 Versuchen fand sich ein signifikanter Anstieg ($p < 0,05$) in 13 Fällen auf einen Mittelwert von 11,5 mg/g Crea, wobei aber nur in 4 Fällen der Normalbereich von 10 mg/g Crea überschritten wurde. Auch hier zeigte sich in der anschließenden Ruhephase noch ein geringer weiterer Anstieg auf 13,7 mg/g Crea, der im Vergleich zu den Ausgangswerten mit $p < 0,01$ signifikant war.

Autoren	Patienten	Alter	Diabetes dauer	Leistung (kpm/min)
Mogensen(22,33) 1975	13	26	7	450-600
Viberti(35) 1978	16	33	10,5	600
Mogensen(34) 1979	18	27	5,6	450-600
Hermansson(37) 1980	55	14	7,6	600
Huttunen(36) 1981	64	14	6	?
Poortmans(38) 1982	21	18	8,2	-1000
Feldt-Rasmussen(94) 1985	25	33	16	450-600
vorliegende Arbeit 1987	17	33	16	450-600

Tabelle 8: Literaturdaten von Arbeiten, die den Effekt der körperlichen Belastung auf die Albuminausscheidung von Typ-1-Diabetikern untersucht haben. (Modifiziert nach der Tabelle von Poortmans und Mitarbeiter (38).

Ein Vergleich mit den Ergebnissen der genannten Arbeiten erbrachte für die vorliegende Arbeit teilweise Übereinstimmungen, aber auch kontroverse Aussagen. Die im größten Teil der Ergometrien erhöhten Albuminwerte im Spontanurin vor der Belastung (31. von 47 Werten waren erhöht, nur 16 im Normbereich unter 10 mg/g Crea) brachten eine Übereinstimmung mit den Arbeiten von Viberti (35) und Poortmans (38), der dabei einen Wert von $18,5 \pm 16,2 \text{ ug/min}$ für 21 Typ-1-Diabetiker fand. Mogensen (22, 31, 34) und auch Huttunen (36) und Hermansson (37) dagegen fanden im Spontanurin normale Albuminwerte, wobei besonders bei den beiden Arbeiten von Huttunen und Hermansson zu beachten ist, daß die Untersuchungen bei Jugendlichen durchgeführt wurden, so daß bei einem geringen Durchschnittsalter von 14 Jahren auch nur eine kurze Diabetesdauer vorlag (6 bzw. 7,6 Jahre). Im Durchschnittsalter und der Diabetesdauer der vorliegenden Arbeit vergleichbar sind die Arbeiten von Feldt-Rasmussen (94) und Viberti (35), die bei einem Alter von 33 Jahren für die Diabetiker eine Diabetesdauer von 16 bzw. 10,5 Jahren ermittelten.

Während der körperlichen Belastung und besonders auch in der Ruhephase danach wurden in vielen Arbeiten ein Anstieg der Mikroalbuminurie gefunden (35, 22, 31, 94). Viberti und Mitarbeiter (35) fanden für Diabetiker, die im Urin vor körperlicher Belastung eine Albuminausscheidung unter 8 ug/min aufwiesen, einen Anstieg während der Belastung bis $59,7 \text{ ug/min}$ und danach auf $154,6 \text{ ug/min}$, der mit $p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$ statistisch signifikant war. Auch für eine Gruppe Typ-1-Diabetiker mit erhöhten Albuminwerten im Ruheurin wurde ein statistischer Anstieg nach der körperlichen Belastung gefunden ($p < 0,005$), während der Anstieg während der Ergometrie nicht signifikant war. Mogensen (22, 31) beschrieb in beiden Arbeiten einen statistisch signifikanten Anstieg der Mikroalbuminurie von

im Mittel normalen Werten unter 10 ug/min auf Werte bis im Mittel 60 ug/min (Abbildungen 7 und 8).

Abbildung 7: Mogensen (22)

Mikroalbuminurie bei 13 männlichen Typ-1-Diabetikern während und nach körperlicher Belastung in Form einer Fahrradergometrie mit einer Leistung von 450 - 600 kpm/min für je 20 min.

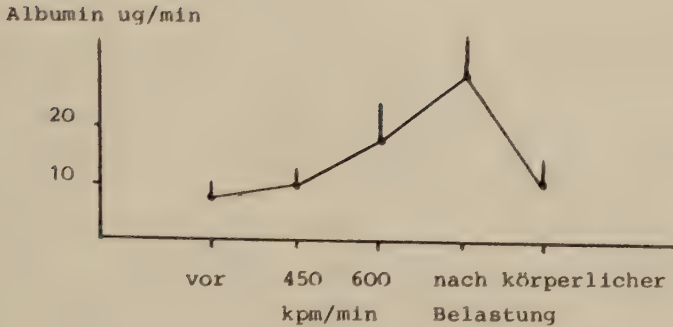
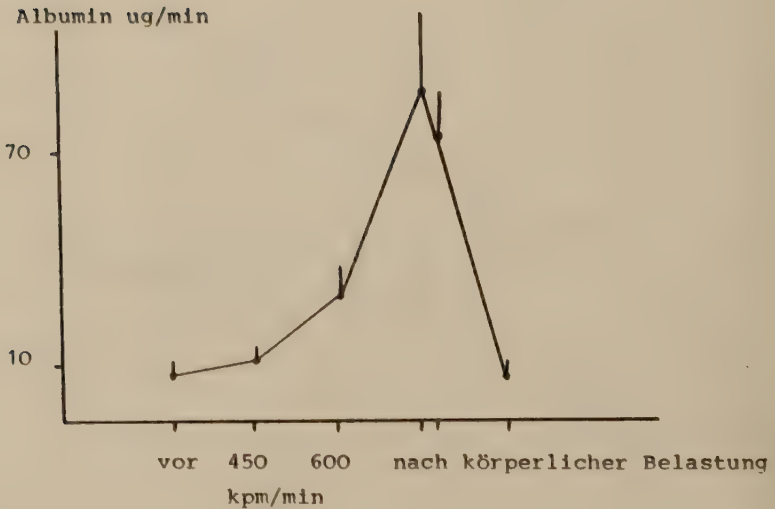


Abbildung 8: Mogensen und Vittinghus (31)

Albuminausscheidung bei 8 Diabetikern während und nach körperlicher Belastung in Form einer Fahrradergometrie mit einer Leistung von 450 - 600 kpm/min für je 20 min.



Feldt-Rasmussen und Mitarbeiter (94) veröffentlichten 1985 Ergebnisse einer Studie, bei der 16 Typ-1-Diabetiker mit normaler Albuminausscheidung im Urin (kleiner 15 $\mu\text{g}/\text{min}$) während körperlicher Belastung einen signifikanten Anstieg der Albuminurie zeigten und bei der 14 Diabetiker mit Albustix negativer Albuminausscheidung (15 - 122 $\mu\text{g}/\text{min}$) ebenfalls einen signifikanten Anstieg bei der Fahrradergometrie aufwiesen. Dagegen fanden Poortmans und Mitarbeiter (38) keinen signifikanten Anstieg der Albuminausscheidung während der körperlichen Belastung und auch nicht in der anschließenden Ruhephase.

Die unterschiedlichen Ergebnisse für die Mikroalbuminurie in den verschiedenen Arbeiten können teilweise auf die etwas differierenden Versuchsbedingungen und auf die Patientenauswahl zurückgeführt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde nur eine 20 minütige Belastungsprobe durchgeführt, ebenso bei Poortmans (38), während Mogensen (22, 31) (Abbildungen 7 und 8) zwei je 20minütige Belastungsphasen hintereinander mit ansteigender körperlicher Belastung (450 auf 600 kpm/min) durchführen ließ. Auch die Länge der Urinsammelperioden nach der Ergometrie war von großer Wichtigkeit. Sammelperioden von 20 Minuten nach der körperlichen Belastung erbrachten bei Mogensen (22, 31) zuerst noch einen weiteren Anstieg der Mikroalbuminurie nach Beendigung der Ergometrie, erst dann einen Abfall der Albuminausscheidung. Eine 60 minütige Sammelperiode in der vorliegenden Studie ergab eine gleichbleibende Mikroalbuminurie während und nach der Ergometrie, wobei durchaus die Möglichkeit besteht, daß auch hier kurze Zeit nach der körperlichen Belastung noch ein Anstieg stattfand, der aber wegen der langen Sammelperiode nicht sichtbar ist.

Die Mikroalbuminurie, die in vielen Arbeiten als frühes Zeichen einer diabetischen Nephropathie gesehen wird (17,

18, 19) und von einigen Autoren als empfindlicher Parameter zur Erfassung funktioneller Nierenschädigungen beim Diabetes mellitus eingestuft wird (95, 96, 97, 98, 99), ist nach dem vorliegenden Ergebnis dieser Arbeit zwar von der körperlichen Belastung abhängig, aber in den meisten Fällen ist der Wert der Albuminausscheidung im Urin der Ruhephase vor der körperlichen Belastung in seiner Aussagekraft ausreichend. Es fand sich zwar ein Anstieg der Albuminausscheidung, aber besonders bei normaler Albuminurie im Ruheurin konnte nur bei wenigen Versuchen während der Belastung ein geringfügiger Anstieg über den Normalbereich hinaus gesehen werden. Dies läßt die Folgerung zu, daß die Fahrradergometrie nur in seltenen Fällen eine Störung der Nierenfunktion aufdeckt, sondern daß bereits der Spontanurin aussagekräftig ist. Es scheint dies die Überlegung zu unterstreichen, daß für den Fall, daß keine Nierenschädigung vorliegt, auch durch einen körperlichen Belastungstest keine zusätzlichen Erkenntnisse gewonnen werden können, und somit die Fahrradergometrie nicht als Test zur Erkennung einer pathologischen Durchlässigkeit der Nierenglomerula herangezogen werden kann.

7.4. Enzyme im Urin

7.4.1. Diskussion der Methodik

Um genaue Ergebnisse bei der Bestimmung der N-acetylglucosaminidase (NAG) und Alanin-amino-peptidase (AAP) zu erhalten, mußten bei der Harngewinnung und bei der Lagerung einige Voraussetzungen erfüllt werden.

Eine entscheidende Größe bei der Harnenzymbestimmung ist der pH-Wert des Urins. Akzeptable Ergebnisse werden bei einem

Wert zwischen 6,0 und 7,5 erzielt (100). Alle asservierten Urine hatten bei sofortiger Messung mit dem Teststreifen der Firma Boehringer pH-Werte zwischen 5 und 7. Aufgrund der kurzen Verweildauer des Urins in der Blase wurden keine Methoden zur Harnalkalisierung in vivo angewendet, doch sofort nach Asservierung des Urins wurde dieser mit NaHCO_3 auf einen pH-Wert von 7 neutralisiert.

Von den in der vorliegenden Arbeit gemessenen Enzymen unterliegt die AAP einem leichten Aktivitätsverlust im stark sauren Urin. Dies konnte bei in vitro-Versuchen gezeigt werden, wobei hier der pH-Wert bei 4,7 lag (101). Die NAG dagegen zeigt im alkalischen Urin bei einem pH-Wert größer 8 einen Aktivitätsverlust (102, 103). Die pH-abhängige Beeinflussung der Enzymaktivitäten wurden im Rahmen dieser Arbeit durch kurze Sammelperioden gering gehalten. Auch wurden keine extrem abweichenden pH-Werte gemessen, die bereits in der Blase eine Inaktivierung der Enzyme vermuten ließen.

Die Lagerung der NAG im Nativurin kann bei vier Grad Celsius im Kühlschrank bei Vermeidung einer bakteriellen Kontamination bis 6 Tage durchgeführt werden, im tiefgefrorenen Urin (minus 25 Grad) ist dies unbegrenzt möglich (104). Die AAP kann nach Konservierung mit Natriumazid 45 Tage bei 4 Grad Celsius gelagert werden (101). Auf diese Möglichkeit wurde aber im Rahmen dieser Studie verzichtet, da keine ausreichenden Daten über eine eventuelle Beeinflussung der Enzymaktivität durch das Konservierungsmittel vorlagen. Da der Urin zur Bestimmung der AAP auch nicht eingefroren werden konnte, da Enzyme des Bürstensaumes der Niere nach Einfrieren und Auftauen einen Aktivitätsverlust erleiden, war nur nach Gelfiltration eine Lagerung im tiefgefrorenen Zustand für 2 Wochen möglich (101). Diese Schwierigkeiten wurden umgangen, indem kurze Zeit nach

Probengewinnung Eluate hergestellt wurden, aus denen anschließend die Enzyme bestimmt wurden, so daß mögliche Aktivitätsverluste vermieden werden konnten.

Das Kernproblem der Analytik der Harnenzyme liegt aber an den meist geringen Enzymaktivitäten, die zugleich auch noch verschiedenen Störfaktoren im Urin unterworfen sind. Hierfür führte Maruhn (105) die Proteinarmut des Harns, die stark variierende Wasserstoffionenkonzentration, die Anwesenheit von Aktivatoren, Inhibitoren und nicht enzymatischen Aktivitäten auf.

7.4.2. N-acetyl-glucosaminidase

Der Normalwert bis 10 U/g Crea für die NAG im Urin wurde in vielen Voruntersuchungen im Institut für Diabetesforschung ermittelt. Jung und Mitarbeiter (106) fanden im Rahmen einer Untersuchung bei nierentransplantierten Patienten und einer Kontrollgruppe von 28 gesunden Probanden einen NAG-Wert von $3,6 \pm 1,1$ U/g Crea.

Die NAG ist als intrazelluläres, lysosomales Enzym zum größten Teil in der proximalen Tubuluszelle lokalisiert, nur zu einem geringen Teil in den distalen Zellen (107), so daß durch dieses Enzym ein bestimmter Schädigungsort bezeichnet wird. Durch die intrazelluläre Lokalisation ist für die Freisetzung der NAG zum einen eine starke Schädigung der Tubuluszelle notwendige Voraussetzung. Die zweite Möglichkeit, die zu einer Erhöhung der NAG-Aktivität im Urin führen könnte, ist eine Enzyminduktion durch eine vermehrte Proteinurie. Wenn die NAG einen sensitiven Parameter zur Erkennung einer Nierenschädigung darstellt (50, 51, 108), so müßte bei Typ-1-Diabetikern, die wechselnde Werte für die NAG aufweisen, zum Zeitpunkt der Messung eine reversible Schädigung der proximalen Tubuluszellen vorgelegen

haben. Cooper und Mitarbeiter (57) sehen in einer vermehrten Ausscheidung eines tubulären Enzyms einen Hinweis auf das Vorliegen und den Schweregrad einer tubulären Schädigung, nicht jedoch einen Index für die Tubulusfunktion.

In der vorliegenden Studie sind nur 44 von 140 Meßwerten der NAG über 10 U/g Crea. Dabei fand sich in der Gesamtbetrachtung der NAG aller 17 Typ-1-Diabetiker während des einjährigen Beobachtungszeitraums keine signifikante Veränderung der Enzymurie nach 6 und 12 Monaten im Vergleich zu den Ausgangswerten zu Beginn der Untersuchung. Einzelne Patienten zeigten während des einen Jahres dennoch deutliche Tendenzen zu einer Verringerung der NAG-Ausscheidung (P.M., P.K.), bei den anderen fanden sich vielfach stark wechselnde Ergebnisse (siehe Tabelle 6).

Eine Abhängigkeit der Enzymurie der NAG von der Stoffwechseleinstellung konnte bei der vorliegenden Arbeit gezeigt werden. Bei guter Einstellung fand sich eine mit $p < 0,01$ statistisch signifikant niedrigere NAG-Ausscheidung im Vergleich zu den schlecht eingestellten Patienten. Dies ist eine Bestätigung der Resultate anderer Studien, die ebenfalls eine deutliche Beeinflussung der Enzymurie der NAG durch Stoffwechseleinstellung fanden (51, 52, 53, 54, 55, 56). Es wurden eine positive Korrelation zwischen der NAG im Urin und dem HbA_{1c} beschrieben (52, 56). Brouhard und Mitarbeiter (51) berichteten von einer Untersuchung an 12 Typ-1-Diabetikern, daß die NAG auch ein empfindlicher Parameter der Stoffwechseleinstellung des Diabetes mellitus ist. Dabei beobachteten sie innerhalb von 24 Stunden bei einem Absinken der Blutglukose bereits einen deutlichen Abfall der Enzymurie der NAG.

Ein Einfluß der körperlichen Belastung auf die NAG konnte nur in wenigen Einzelfällen (D.R., P.B., S.E.) beobachtet

werden, während in der Mehrzahl der Ergometrien die Enzymaktivität unverändert blieb. Die Ergebnisse von Poortmans (109) und Brouhard (110), die einen Einfluß der körperlichen Belastung auf die Enzymexkretion fanden, konnte somit nicht uneingeschränkt bestätigt werden. Brouhard und Mitarbeiter (110) untersuchten die NAG-Ausscheidung bei Kindern und Jugendlichen zwischen 5 und 17 Jahren und entdeckten bei gesunden Probanden eine Tendenz zur Verringerung der NAG-Ausscheidung bei körperlicher Belastung, währenddessen die 28 Typ-1-Diabetiker der Studie einen deutlichen Anstieg der Enzymurie aufwiesen.

Eine Folgerung, welcher Mechanismus letztlich für eine verstärkte Ausscheidung der NAG verantwortlich ist, kann an dieser Stelle nicht getroffen werden. Die Möglichkeit einer Schädigung der proximalen Tubuli bei einer schlechten Stoffwechseleinstellung wird gestützt durch die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der aktuellen Stoffwechselsituation, die durch den Wert der glucosylierten Serumproteine angezeigt wird. Die zweite Möglichkeit über eine Enzyminduktion wird in einem folgenden Abschnitt erst noch zu untersuchen sein (Kapitel 7.5.).

7.4.3. Alanin-amino-peptidase

Der Normalbereich der AAP-Aktivität im Urin wurde im Institut für Diabetesforschung in vorangegangenen Arbeiten bis 5 U/g Crea angegeben. Jungmann und Mitarbeiter (44) geben einen Wert von unter 300 mU/24 h für Frauen und von unter 4000 mU/24 h für Männer an. Mondorf (46) fand Werte für die AAP, die mit dem Nierengewicht korrelieren, für Männer von 2300 +/- 900 mU/24 h und für Frauen von 1400 +/- 500 mU/24 h.

Die Alanin-amino-peptidase ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 240 000 Dalton und zeigt daher keine glomeruläre Filtration. Die AAP-Ausscheidung im Urin wird als Parameter zur Erkennung von toxischen Schädigungen der proximalen Tubuluszelle gesehen (45, 46, 47, 48), so bei toxischen Schwermetall- oder Arzneimittelschädigungen, bei chronischen Harnwegsinfekten und bei Transplantatabstoßung. Auch beim Diabetes mellitus wurde eine erhöhte Ausscheidung der AAP im Urin gefunden (44, 45). Mondorf (46) bezeichnet die AAP im Gegensatz zu funktionellen Parametern als Gewebsparameter, der geringe morphologische Veränderungen in der Niere anzeigt, die noch keinen sichtbaren Einfluß auf die Nierenfunktion haben. Beim Diabetes mellitus wird vermutet, daß eine kontinuierliche Schädigung der proximalen Tubuluszelle durch eine erhöhte Glukoseausscheidung im Harn vorliegen könnte. Ein möglicher Wirkmechanismus könnte nach Mondorf (46) in einer osmotischen Alteration der proximalen Tubuluszelle durch die Glukoseausscheidung und die gesteigerte Diurese zu sehen sein. Da die AAP der Tubuluszelle von der Seite des Tubuluslumens her aufsitzt (siehe Abbildung 1), könnte der beschriebene Mechanismus leicht zu einer verstärkten Enzymurie der AAP führen.

Jungmann und Mitarbeiter (44) fanden bereits bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz erhöhte Werte für die AAP im Urin, allerdings seltener als bei Patienten mit einem manifesten Diabetes mellitus.

Im Rahmen der vorliegenden Studie waren 64 Prozent der gemessenen AAP-Werte über 5 U/g Crea erhöht, was mit Zahlen von Jungmann (44) übereinstimmt, der bei 57 Prozent der Patienten mit langjährigem Diabetes eine gesteigerte AAP-Ausscheidung im Urin fand.

Während des Beobachtungszeitraums wurden bei den 17 Typ-1-Diabetikern abnehmende AAP-Werte gemessen, was sich auch im Vergleich der Aktivitäten nach 6 und 12 Monaten mit den Ausgangswerten in einer Signifikanz von $p < 0,05$ ausdrückte.

Eine Abhängigkeit von der Stoffwechseleinstellung zeigte sich in etwas niedrigeren Werten bei guter Diabetes-einstellung (GSP $\leq 6,0$ nmol lys-glu/mg Prot). Die körperliche Belastung hatte keinen Einfluß auf die Enzymurie der AAP.

Es muß in Betracht gezogen werden, daß eine gesteigerte Aktivität der AAP im Urin auch als Zeichen einer beginnenden diabetischen Nephropathie gesehen werden kann (44). Möglicherweise betreffen die chemischen Veränderungen der Basalmembran nicht nur die glomerulären Abschnitte, wie dies bei der Mikroalbuminurie beschrieben ist, sondern auch die tubulären Basalmembranen weisen bei zunehmender Glucosylierung der Membranproteine unter Hyperglycämiebedingungen Veränderungen auf. Dies könnte somit neben der Alteration bei Glucosurie und gesteigerter Diurese ein zweiter Wirkungsmechanismus sein, der eine funktionelle und reversible Schädigung der proximalen Tubuluszelle bewirkt. Was zutreffend ist oder ob eventuell auch die Möglichkeit einer Enzyminduktion beachtet werden muß, wird im folgenden Kapitel über die Zusammenhänge zwischen Mikroalbuminurie und Enzymurie untersucht werden.

7.5. Beziehungen zwischen Mikroalbuminurie und Enzymurie

Entsprechend dem Schema des Proteinmetabolismus der proximalen Tubuluszelle, wie er in Abbildung 1 dargestellt ist, könnte eine Enzymurie durch eine Proteinurie induziert werden. Ein vermehrter Anfall von Proteinen und damit auch Al-

bumin durch eine gesteigerte glomeruläre Durchlässigkeit der Basalmembran führt über eine gesteigerte tubuläre Rückresorption in die proximale Tubuluszelle zu einer Induktion der Synthese lysomaler Enzyme. Cooper und Mitarbeiter (57) beschreiben in einem Artikel über die tubuläre Proteinurie diese Möglichkeit als Ursache für eine gesteigerte Enzymbildung und Enzymelimination. Die Enzyminduktion und damit die gesteigerte Enzymsynthese wäre dabei nicht notwendigerweise mit einer geschädigten Zellmembran verbunden, sondern die vermehrte lysomale Enzymfreisetzung und der gesteigerte lysomale Enzymsatz würde die Erhöhung der Enzymaktivität im Urin bedingen.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine deutliche Abhängigkeit der Enzymurie der N-acetyl-glucosaminidase von der Mikroalbuminurie gefunden (Abbildung 4). Bei 16 Ergometrien mit normaler Mikroalbuminurie (unter 10 mg/g Crea) fand sich eine, im Vergleich zu 21 Ergometrien mit leicht erhöhter Albuminausscheidung (10 - 30 mg/g Crea), mit $p < 0,01$ signifikant niedrigere NAG-Ausscheidung im Urin. Auch der Vergleich der 16 Ergometrien mit normaler Albuminurie mit 10 Ergometrien mit stark erhöhter Albuminausscheidung (über 30 mg/g Crea) erbrachte eine mit $p < 0,005$ signifikant höhere Enzymurie bei hoher Albuminurie.

Diese Ergebnisse, steigende NAG-Ausscheidung bei steigender Mikroalbuminurie, stützten die Überlegungen von Cooper (57), daß durch die Eiweißausscheidung eine Enzymsynthese induziert wird und so eine gesteigerte Elimination im Urin registriert werden kann.

Aufgrund dieser Zusammenhänge scheint die Aussage, daß eine erhöhte Enzymurie der NAG eine Schädigung der proximalen Tubuluszelle anzeigt, nicht ohne Einschränkungen gültig zu

sein. Über welchen Mechanismus es zu einer gesteigerten NAG-Ausscheidung bei erhöhter Mikroalbuminurie kommt, ob durch Enzyminduktion, durch Zellschädigung oder durch eine Kombination mehrerer Ursachen, kann nicht eindeutig beantwortet werden.

Die Enzymurie der Alanin-amino-peptidase erbrachte beim Vergleich der 16 Ergometrien mit normaler Albuminurie mit den 21 Ergometrien mit leicht erhöhter Albuminausscheidung keinen signifikanten Unterschied bei der AAP-Ausscheidung. Erst der Vergleich mit den 10 Ergometrien mit stark erhöhter Albuminausscheidung ergab einen mit $p < 0,01$ signifikant niedrigeren AAP-Wert für die 16 Ergometrien mit normaler Albuminurie (Abbildung 5).

Auch diese Ergebnisse zeigen eine Abhängigkeit der Enzymausscheidung der AAP von der Mikroalbuminurie, die aber im Gegensatz zur NAG nicht so deutlich ausfiel. Eine Enzyminduktion könnte auch bei der AAP Ursache einer gesteigerten Elimination im Urin sein. Durch die Lokalisation im Tubuluslumen auf der Bürstenmembran scheint es wahrscheinlicher, daß die AAP-Aktivität im Urin eher eine funktionelle oder bereits morphologisch determinierte Schädigung der proximalen Tubuluszelle anzeigt. Bei einer normalen glomerulären Filtration des Albumins, verbunden mit einer erhöhten AAP-Ausscheidung, die eine tubuläre Schädigung anzeigt, kann es durch eine verminderte tubuläre Rückresorption zu einer erhöhten Mikroalbuminurie kommen. Dies würde bedeuten, daß hierbei eine isolierte Schädigung im proximalen Tubulusbereich ohne glomeruläre Beteiligung vorliegen könnte.

7.6. Vergleich zwischen konventioneller Insulintherapie und kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion

Ausschlaggebend dafür, welcher Diabetiker mit CIT und welcher mit CSII behandelt wurde, waren das Alter des Patienten, die Einstellbarkeit des Diabetes und vor allem die individuelle Bereitschaft jedes einzelnen Patienten. Es zeigte sich, daß die CSII behandelten Diabetiker jünger waren (Alter: CSII 29 Jahre versus CIT 37 Jahre) und eine im Mittel kürzere Diabetesdauer aufwiesen (CSII 12 Jahre versus CIT 20 Jahre). Der Grund hierfür ist darin zu sehen, daß ältere Patienten seltener mit CSII behandelt werden (Ausnahme war die 53 jährige Patientin D.R.). Daher ergaben sich im Vergleich zwischen CSII und CIT zwei Gruppen von Diabetikern, die hinsichtlich der Gruppenstruktur sehr unterschiedlich waren, so daß ein Vergleich beider Therapieformen nur unter Berücksichtigung dieses Gesichtspunktes möglich ist.

Bei der Betrachtung der Stoffwechseleinstellung zeigte sich bei den glucosylierten Serumproteinen ein mit $p < 0,005$ signifikant niedrigerer Wert bei den mit CSII behandelten Diabetikern.

Dies zeigt, daß mit der kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion eine bessere Stoffwechseleinstellung erreicht wird, ein Ergebnis, das auch in vielen anderen Arbeiten gefunden wurde (39, 40, 41, 42). Dagegen gibt es auch Ergebnisse, die keine bessere Stoffwechseleinstellung bei CSII behandelten Diabetikern aufweisen (111).

Die Werte der Mikroalbuminurie zeigten, nachdem die vier Diabetiker mit konstant erhöhter Albuminausscheidung gesondert betrachtet wurden, keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen der mit CSII und CIT behandelten Diabetiker.

Interessant dabei ist aber, daß die Mikroalbuminurie während des einjährigen Beobachtungszeitraums bei den mit CSII behandelten Diabetikern einen mit $p < 0,01$ signifikanten Abfall der Albuminausscheidung im Urin vor der körperlichen Belastung zeigt, wobei dies aber nur für die ersten sechs Monate der Studie gültig ist. Während der weiteren sechs Monate bis zum Ende der Studie blieb die Ausscheidung im gleichen Niveau. Bei den mit CIT behandelten Diabetikern fand sich dagegen sogar ein leichter Anstieg der Albuminausscheidung während des Beobachtungszeitraums. Vibert und Mitarbeiter (30) und Koivisto und Mitarbeiter (112) beschrieben einen positiven Einfluß der CSII-Behandlung auf die Albuminausscheidung im Urin, wobei bei Viberti aber nur ein sehr kurzer Zeitraum von 3 Wochen betrachtet wurde.

Die Enzymurie der NAG und der AAP erbrachten für beide Enzyme etwas höhere Werte bei der konventionellen Insulintherapie, wobei die Unterschiede nicht signifikant waren. Erwähnenswert ist dabei, daß die AAP in beiden Gruppen (CSII und CIT) während des Beobachtungszeitraums deutlich abfiel, während dies bei der NAG nicht der Fall war. Diese Ergebnisse könnten ein Hinweis darauf sein, daß eine Besserung der Stoffwechseleinstellung mit einem Rückgang der AAP-Ausscheidung einhergeht, wie dies besonders für die mit CSII behandelten Patienten zu beobachten war.

7.7. Diskussion wichtiger Ergebnisse einzelner Patienten

In diesem Abschnitt sollen wichtige Ergebnisse der Mikroalbuminurie und der Enzymurie von einzelnen Typ-1-Diabetikern zusammengestellt werden, die in den vorangegangenen Gesamt-

betrachtungen nicht ausreichend berücksichtigt wurden (siehe dazu Tabelle 5, Tabelle 6 und Tabelle 7).

Bei der 53jährigen Patientin D.R. lag seit 16 Jahren ein insulinpflichtiger Diabetes mellitus vor. Bereits vor dieser Studie war die Patientin mit einem implantierten, programmierbaren Insulindosiergerät behandelt worden. Dabei konnten über mehrere Wochen normoglycämische Werte der Stoffwechseleinstellung erreicht werden (113). Bei Beginn der Studie zeigte die Diabetikerin keine klinisch erfaßbare Einschränkung der Nierenfunktion.

Bei der I.Ergometrie war unter einer guten Stoffwechseleinstellung eine erhöhte Albuminausscheidung zu beobachten. Auch beide Enzyme des proximalen Tubulus waren im Urin gesteigert. Bei der II.Ergometrie nach 6 Monaten fand sich ein Rückgang der Albuminurie und der Enzymurie, wobei die Stoffwechseleinstellung schlechter war. Bei der III.Ergometrie, wieder unter sehr guter Stoffwechsellaage, lagen die Albuminwerte im Normbereich, während die AAP nur gering, die NAG dagegen stark erhöht war. Bei der III. Ergometrie wurde die Insulinapplikation mittels eines intraperitoneal liegenden Katheters und der tragbaren Insulinpumpe "Promedos 1" der Siemens AG durchgeführt. Diese war bereits vor dieser Studie im Rahmen eines stationären Aufenthaltes bei der Patientin angewandt worden (114). Diese Ergebnisse zeigen, daß die Mikroalbuminurie und die Enzymurie immer mit der Stoffwechseleinstellung korrelieren. Ein Rückgang der Albuminausscheidung könnte aber möglicherweise doch Folge einer dauerhaft guten Stoffwechsellaage sein, wobei eine zu Beginn stark gesteigerte Ausscheidung sowohl durch eine erhöhte glomeruläre Filtration, als auch durch eine verminderte tubuläre Resorption bedingt sein kann. Zum Abschluß der Studie hatte sich die Albuminausscheidung normalisiert, während die Enzyme erhöht waren. Dies könnte dafür sprechen, daß durch die gute

Stoffwechseleinstellung die glomeruläre Filtration normal ist, die tubuläre Resorptionsleistung ausreicht, während bereits ein tubulärer Schaden, sichtbar durch die gesteigerte Enzymaktivität im Urin, vorliegen könnte.

Die 20jährige Patientin F.H., mit einer Diabetesdauer von 4 Jahren, wurde bei den beiden ersten Ergometrien mit einer kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion behandelt. Bei der III.Ergometrie erfolgte die Applikation über einen intraperitoneal liegenden Katheter. Vor der I.Ergometrie bestand eine gute Stoffwechseleinstellung und alle Werte der Albumin- und Enzymausscheidung lagen im Normalbereich. Die II. Ergometrie wurde im kurzen Abstand zu einer Stoffwechselentgleisung durchgeführt. Hierbei zeigten sich deutlich erhöhte Werte der Albuminurie und der Enzymurie. Bei der III.Ergometrie war die Stoffwechsellage gebessert, aber noch nicht im Normalbereich. Bereits jetzt fanden sich wieder völlig normale Werte für die Albumin- und Enzymausscheidung im Urin.

Im Gegensatz zur Patientin D.R., die eine wesentlich längere Diabetesdauer aufwies, zeigte sich bei der Diabetikerin F.H. ein sehr deutlicher Zusammenhang zwischen der Diabeteseinstellung und der Albuminurie sowie Enzymurie. Hierbei ist bemerkenswert, daß erst eine drastische Stoffwechselverschlechterung zu einem Anstieg der Urinparameter führte, während eine nur leichte Verschlechterung, wie sie bei der III. Ergometrie vorlag, nicht ausreichte. Dies ist als Ergebnis einer funktionellen, reversiblen Nierenschädigung zu werten, die durch die schlechte Stoffwechselsituation bedingt war, wobei sowohl im Bereich der Glomeruli, als auch im tubulären Abschnitt eine Irritation der Nierenfunktion auftrat.

Der 28jährige Diabetiker L.S. (Diabetesdauer 23 Jahre) wurde bei allen drei Ergometrien mit einer kontinuierlichen

subcutanen Insulininfusion behandelt. Er wies in allen Fällen eine sehr gute Stoffwechseleinstellung auf. Auch die Enzymaktivitäten der AAP und der NAG waren im Normalbereich. Dagegen zeigte sich bei allen Versuchen eine deutlich gesteigerte Albuminausscheidung, die zwar im Beobachtungszeitraum eine fallende Tendenz aufwies, aber nie Normalwerte erreichte.

Diese Ergebnisse sprechen für eine manifeste, vermutlich nicht mehr reversible, morphologisch determinierte Albuminurie, da auch nach einem Jahr mit guter Stoffwechseleinstellung immer noch stark erhöhte Werte der Albuminausscheidung zu finden waren. Die dabei stets im Normalbereich liegenden Enzymwerte sprechen zum einen für eine fehlende Beteiligung des proximalen Tubulus im Rahmen der Nierenschädigung, zum anderen gegen die Vorstellung einer Enzyminduktion durch eine gesteigerte Albuminurie. Aufgrund dieser Vorstellung müßte die konstant erhöhte Albuminausscheidung dieses Patienten ihren Ursprung im Bereich der Glomeruli haben.

Der 30jährige Patient S.E. (Diabetesdauer 13 Jahre) wurde mit einer konventionellen Insulintherapie behandelt. Er wies bei allen drei Ergometrien eine relativ gute Stoffwechseleinstellung auf. Er war im Rahmen dieser Studie der Patient mit den höchsten Werten für das Albumin und die Enzyme im Urin. Dennoch zeigten die Werte ebenfalls fallende Tendenz während des Beobachtungszeitraums. Die Ergebnisse sprechen dafür, daß bei diesem Diabetiker bereits ein Übergang in eine klinisch manifeste Proteinurie eingetreten ist. Ebenso waren trotz guter Stoffwechsellaage die Enzyme im Urin erhöht, was für die tubuläre Mitbeteiligung sprechen könnte. Es scheint hier die Aussage möglich, daß beim Patienten S.E. eine morphologisch determinierte, nicht reversible Schädigung der Niere vorliegt, wobei die Schädi-

gung gleichzeitig die glomerulären und die tubulären Abschnitte betrifft.

7.8. Diskussion der Blutparameter

Blutglukose

Bei Diabetikern wird durch Muskelarbeit eine Senkung des Blutzuckers induziert (115, 116, 117). Dies zeigt sich bei den 47 Ergometrien der vorliegenden Arbeit in einem mit $p < 0,01$ signifikanten Abfall der Blutglukose während der körperlichen Belastung. Die Werte lagen hierbei vorher bei 163 ± 66 mg% und fielen während der 20minütigen Ergometrie auf 129 ± 55 mg%. Auch in der anschließenden 60minütigen Ruhephase fand sich ein signifikanter ($p < 0,01$) weiterer Abfall auf 111 ± 51 mg%.

War der Glukosewert zu Beginn der Ergometrie sehr hoch, so fand sich zum Teil nur ein geringer Abfall während der körperlichen Belastung. Dies könnte durch einen relativen Insulinmangel bedingt gewesen sein, da auch der arbeitende Muskel auf Insulin zur Metabolisierung von Glukose angewiesen ist (118, 119, 120). Bei 11 Ergometrien, bei denen am Versuchsende Blutzuckerwerte unter 70 mg% gemessen wurden, fand sich ein Ausgangswert von 117 ± 47 mg%. Davon wurden 9 Versuche unter kontinuierlicher Insulininfusion durchgeführt, wobei während der körperlichen Belastung die Insulinapplikation nicht gestoppt wurde. Es bestand also für die CSII behandelten Diabetiker in höherem Maße die Gefahr, während der Belastung in eine hypoglycämische Stoffwechsellage zu gelangen. Es scheint aufgrund dieser Ergebnisse daher ratsam, bei CSII behandelten Diabetikern mit exakter Stoffwechseleinstellung die Basalrate der kontinuierlichen subcutanen Insulininfusion während der körperlichen Belastung zu senken oder sogar die Applikation zu

stoppen, wobei aber darauf geachtet werden muß, daß nicht ein Zustand des Insulinmangels induziert wird.

Freies Insulin

Den Werten des freien Insulins soll ein wichtiger Gesichtspunkt vorangestellt werden, der in vielen Arbeiten beschrieben wird (121, 122, 123, 124). Es ist dies eine gesteigerte Absorption von subcutan injiziertem Insulin während der Muskelarbeit, wenn die Applikationsstelle in einer Körperregion liegt, die aktiv bewegt wird, wie dies zum Beispiel für den Oberschenkel beim Fahrradfahren zutrifft. Zwar lag die Injektionsnadel bei den CSII behandelten Diabetikern in der Regel im subcutanen Gewebe der Bauchhaut, aber es scheint durchaus möglich, daß bei einer Fahrradergometrie durch Betätigung der Bauchmuskulatur eine verstärkte Insulinabsorption auftritt. Die Probanden, die mit einer konventionellen Insulintherapie behandelt wurden, hatten unterschiedliche Injektionsstellen, wobei auch der Oberschenkel benützt wurde.

Es wurde weiterhin dafür Sorge getragen, daß der ergometrische Belastungstest nicht kurz nach einer Mahlzeit abgehalten wurde, zu der die CSII behandelten Diabetiker üblicherweise einen zusätzlichen Insulinbolus abgaben und somit ein höherer Insulinspiegel vorlag (125). Die Ergometrien wurden am Vormittag um 10.00 Uhr, am Nachmittag um 14.00 Uhr und am späten Nachmittag gegen 17.00 Uhr durchgeführt.

Bei den 47 Ergometrien der vorliegenden Arbeit fand sich ein Insulinspiegel, der während der körperlichen Belastung und auch in der Ruhephase danach, keine Änderung im Vergleich zum Ausgangswert aufwies (vorher: 44 ± 23 uU/ml; während: 41 ± 25 uU/ml; in der Ruhephase: 41 ± 26 uU/ml). Dahingegen sinkt bei gesunden Personen der Insulinspiegel bei körperlicher Belastung ab (126, 127). Auch der Vergleich der CSII und der CIT behandelten

Diabetiker erbrachte für beide Gruppen keine Abhängigkeit des Insulinspiegels von der körperlichen Belastung.

Freie Fettsäuren

Die freien Fettsäuren zeigten bei 47 Ergometrien während der körperlichen Belastung einen mit $p < 0,005$ signifikanten Anstieg von $0,60 \pm 0,54$ mEq/l auf $1,01 \pm 0,84$ mEq/l in 20 Minuten. Der Abfall während der 60 minütigen Ruhephase auf $0,73 \pm 0,53$ mEq/l war ebenfalls signifikant mit $p < 0,01$. Der Anstieg der freien Fettsäuren während der körperlichen Belastung ist ein Zeichen der gesteigerten Lipolyse zur Bereitstellung von Energiereserven für den arbeitenden Muskel. Dies ist nur während der Phase der Belastung notwendig, nicht in der Ruhephase danach. Entsprechend war eine schnelle Normalisierung der freien Fettsäuren zu beobachten. Durch die Bereitstellung anderer energetisch verwertbarer Substrate kann der Körper auch bei vorzeitiger Entleerung der hepatischen Glykogenvorräte eine Hypoglycämie verhindern (128, 129).

Laktat

Der Anstieg des Laktats während der Ergometrie von $1,4 \pm 0,6$ nmol/l auf $3,2 \pm 2,4$ nmol/l war mit $p < 0,005$ signifikant bei den 47 Ergometrien. Auch der Abfall auf das Ausgangsniveau in der anschließenden 60minütigen Ruhephase war mit $p < 0,005$ signifikant. Der Anstieg des Laktats während der Fahrradergometrie war Ausdruck der gesteigerten anaeroben Glykolyse. Die Abhängigkeit von der Stoffwechseleinstellung, wie sie in anderen Arbeiten beschrieben wurde (117, 119, 130), fand sich auch in der vorliegenden Studie. Dabei waren die Laktatwerte bei guter Stoffwechseleinstellung während des ganzen Versuchs im Normbereich, bei den schlecht eingestellten Diabetikern wurden dagegen deutlich erhöhte Werte gefunden. Zusätzlich zur Stoffwech-

sellage beeinflusste auch der individuelle Trainingszustand den Anstieg des Laktats während der körperlichen Belastung.

8. Zusammenfassung

Beim Diabetes mellitus steht nicht mehr das akute Krankheitsbild des Insulinmangels im Vordergrund, sondern die sekundären Spätfolgen treten bei der Diagnostik und Therapie immer stärker hervor. Besonders die diabetische Nephropathie ist eine sehr schwerwiegende Folge des Diabetes. Klinisch kann die diabetische Nephropathie erst erkannt werden, wenn das Niveau der Proteinurie über 0,5 g/24 h (=Albustix positiv) liegt.

Die vorliegende Studie wurde konzipiert, um Parameter der Niere zu untersuchen, die frühzeitig auf die Entstehung einer Nephropathie hinweisen könnten. Hierfür wurden die Albuminausscheidung und die Enzymurie der N-acethylglucosaminidase (NAG) und Alanin-amino-peptidase (AAP), beides Enzyme der proximalen Tubuluszelle, untersucht. Dabei wurde speziell auch das Ausscheidungsverhalten bei körperlicher Belastung beobachtet. Gleichzeitig wurden zur Beurteilung der Stoffwechseleinstellung Messungen des HbA_{1c}, der glucosylierten Serumproteine, der Glukose, des freien Insulins, der freien Fettsäuren und des Laktats durchgeführt.

Es wurden 17 Typ-1-Diabetiker über einen Beobachtungszeitraum von einem Jahr kontrolliert. Zu Beginn der Studie, nach 6 und 12 Monaten wurde jeweils eine 20minütige Fahrradergometrie durchgeführt und dabei vorher, während und nach der körperlichen Belastung die Urin- und Blutparameter gemessen. Insgesamt fanden 47 Ergometrien statt, 22 während konventioneller Insulintherapie (CIT) und 25 während kontinuierlicher subcutaner Insulininfusion (CSII).

Es ergaben sich dabei zusammengefaßt die folgenden wichtigen Ergebnisse:

- Die Mikroalbuminurie zeigte während des einjährigen Beobachtungszeitraums keine signifikante Änderung bei gleichbleibender Stoffwechseleinstellung für eine Gruppe von 13 Diabetikern mit wechselndem Ausscheidungsverhalten.
- Vier Diabetiker wiesen konstant erhöhte Albuminwerte im Urin auf, zeigten aber gleichzeitig einen Rückgang während des einen Jahres, wobei aber der Normalbereich nicht erreicht wurde.
- Es fand sich ein signifikanter Anstieg der Albuminurie während körperlicher Belastung ($p < 0,05$), wobei erhöhte Werte im Spontanurin auch bei Belastung erhöht waren, während normale Werte vor der Belastung nur selten über den Normalwert anstiegen.
- Die Enzymurie der NAG ist nicht belastungsabhängig.
- Signifikant niedriger ($p < 0,01$) ist die NAG-Ausscheidung bei guter Stoffwechseleinstellung im Vergleich zu schlechter Einstellung.
- Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Albuminurie und der NAG-Ausscheidung ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,005$).
- Die Enzymurie der AAP zeigte im Beobachtungszeitraum einen mit $p < 0,05$ signifikanten Abfall, wobei ebenfalls keine Abhängigkeit von der körperlichen Belastung bestand.
- Auch bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Albuminurie und der AAP-Aktivität im Urin ($p < 0,01$).

wobei dies aber erst bei starker Albuminausscheidung zutraf.

Diese Ergebnisse lassen zusammen mit den Veröffentlichungen anderer Arbeiten einige Aussagen über die Beteiligung von glomerulären und tubulären Nierenabschnitten bei einer diabetischen Nephropathie zu, wobei eine Unterscheidung in bereits morphologisch determinierte und in funktionell reversible Schädigung getroffen werden muß.

Es ist notwendig, Messungen der Eiweißausscheidung im Urin bereits unter der Albustix-positiven Grenze von 0,5 g/24 h vorzunehmen, um frühzeitig beginnende Veränderungen der Niere beim Diabetiker zu erkennen. Hierzu ist die Mikroalbuminurie ein guter Parameter, da oftmals durch eine schlechte Stoffwechseleinstellung schon eine erhöhte Ausscheidung im Urin gemessen werden kann. Eine Fahrradergometrie als Provokationstest kann nach den vorliegenden Ergebnissen nicht empfohlen werden, da durch sie keine pathologische Albuminausscheidung induziert wird, die nicht schon im Spontanurin diagnostiziert werden kann. In einigen Fällen wurde nachgewiesen, daß auch konstant erhöhte Werte des Albumins im Urin bei guter Stoffwechseleinstellung einen Rückgang zeigen, wobei aber keine normalen Werte erreicht wurden, so daß hier morphologisch determinierte, nicht mehr reversible Veränderungen der Niere angenommen werden müssen, die aber durch die klinisch verwendete Albustixmethode noch nicht nachgewiesen werden können.

Der Aussagewert der Enzymaktivitäten im Urin ist schwer zu beurteilen. So besteht für die NAG durchaus die Möglichkeit einer Enzyminduktion bei erhöhter Albuminausscheidung durch einen gesteigerten Eiweißumsatz in der proximalen Tubuluszelle. Dagegen ist die AAP eher ein Enzym, das eine

Schädigung im Bereich des proximalen Tubulus anzeigt, da es nicht so deutlich wie die NAG mit der Albuminurie korreliert. Für die Enzymurie ist die Fahrradergometrie kein geeignetes Mittel zur Aufdeckung eventuell vorhandener Tubulusschädigungen; da in dieser Arbeit keine Abhängigkeit der Enzymurie von der körperlichen Belastung gefunden werden konnte. Auch hier sind die Messungen im Spontanurin ausreichend, um Aussagen über die Enzymaktivität zu treffen.

Schlußfolgerung der vorliegenden Arbeit ist, daß die Mikroalbuminurie und die Enzymurie der AAP im Spontanurin geeignet sind, eventuell frühe, noch reversible Veränderungen der Niere in den glomerulären und tubulären Abschnitten aufzuzeigen. Dagegen kann für die NAG nicht gesagt werden, inwieweit diese Aktivität einen Aussagewert über eine Tubulusschädigung hat oder ob sie nur durch Albuminausscheidung induziert wird.

9.Literaturverzeichnis

1) Gries,F.A. (1979)

Die Bedeutung der Diabetestherapie für die Entwicklung
diabetischer Komplikationen.

Int. Welt 12, 387-397

2) Mehnert,H. (1974)

Zur Pathogenese und Prophylaxe diabetischer
Mikroangiopathien.

Dtsch. Med. Wschr. 99, 2418

3) Standl,E. (1978)

Diabetische Mikroangiopathie: Neuere Konzepte zur
Pathogenese.

Dtsch. Med. Wschr. 20, 841-844

4) Pirart,J. (1981)

Glycaemic control and development of diabetic
nephropathy.

Acta Endocrin. Suppl 242, 41-42

5) Kuhlmann,H. (1984)

Nierenkrankheiten

In: Mehnert,H., Schöffling,K.

Diabetologie in Klinik und Praxis, 430-436

Thieme-Verlag Stuttgart

6) Wahl,P., Deppermann,D. (1981)

Nephropathie

In: Robbers,H., Sauer,H., Willms H. (Hrsg.).

Praktische Diabetologie, 222-223

Werk-Verlag Dr. E. Banaschewski, 2.Auflage

- 7) Maloney, A., Tunbridge, W.M.G., Ireland, J.T.,
Watkins, P.J. (1983)
Mortality from diabetic nephropathy in the United
Kingdom.
Diabetologia 25, 26-30

- 8) Andersen, A.R., Christiansen, J.S., Andersen, J.K.,
Greiner, S., Deckert, T. (1983)
Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent)
diabetes: an epidemiological study.
Diabetologia 25, 496-501

- 9) Mauer, S.M., Brown, D.M., Steffens, M.W. (1981)
Studies on the reversibility of Kidney changes in
experimental diabetes in the rat.
Acta Endocrin. Suppl. 242, 29-30

- 10) Gotzsche, O., Gundersen, H.J.G., Osterby, R. (1981)
Irreversibility of Glomerular Basement Membrane
Accumulation Despite Reversibility of Renal
Hypertrophy with Islet Transplantation in Early
Experimental Diabetes.
Diabetes 30, 481-485

- 11) Deckert, T., Andersen, A.R., Christiansen, J.S.,
Andersen, J.K. (1981)
Course of diabetic nephropathy. Factors related to
development.
Acta Endocrinol. 97, (suppl 242), 14-15

- 12) Osterby, R. (1975)
Early phases in the development of diabetic
glomerulopathy. A quantitative electron microscopic
study.
Acta Med. Scand. 200 (Suppl 574), 1-82

- 13) Briani,G., Baggio,B., Gambero,G., Bruttomesso,D.,
 Tiengo,A., Borsatti,A., Crepaldi,G. (1983)
 The early functional identification or renal involment
 in diabetes mellitus.
 Diabetologia 25, 143

- 14) Mogensen,C.E., Osterby,R., Gundersen,H.J.G. (1979)
 Early functional and morphologic vascular renal
 .consequences of the diabetic state.
 Diabetologia 17, 71-76

- 15) Watkins,P.J. (1982)
 Nephropathie.
 Br. Med. J. 285, 627-629

- 16) Mogensen,C.E. (1976)
 Progression of nephropathie in long-term diabetes with
 proteinuria and effect of lang anti-hypertensive
 treatment.
 Scand.J.clin.Lab.Invest. 36, 383-388

- 17) Viberti,G.C., Jarrett,R.J. Mahmud,U., Hill,R.D.,
 Argyropoulos,A., Keen,H. (1982)
 Micoralbuminuria as a predictor of clinical
 nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus.
 Lancet 26, 1430-1432

- 18) Mogensen,C.E., Christensen,C.K. (1984)
 Predicting Diabetic nephropathy in insulin-dependent
 patients.
 N.Engl.J.Med. 311, 89-93

- 19) Mathiesen,E.R., Oxenboll,B., Johansen,K.,
Svendsen,P.A., Deckert,T. (1984)
Incipient nephropathy in Type I (insulin-dependent)
diabetes.
Diabetologia 26, 406-410
- 20) Mogensen,C.E. (1971)
Urinary albumin excretion in early and long-term
juvenile diabetes.
Scand.Lab.Invest. 28, 101-109
- 21) Viberti,G.C., Pickup,J.C., Jarrett,R.J., Keen,H.
(1979)
Effect of control of blood glucose on urinary
excretion of albumin and β -2-microglobulin in insulin-
dependent diabetes.
N.Engl.J.Med. 300, 638-641
- 22) Mogensen,C.E. (1976)
Renal function changes in diabetes.
Diabetes 25, (Suppl 2), 872-879
- 23) Viberti,G.C., Keen,H. (1984)
The patterns of proteinuria in diabetes mellitus.
Relevance to pathogenesis and prevention of diabetic
nephropathy.
Diabetes 33, 686-691
- 24) Kanvar,J.S., Rosenzweig,L.J., Linker,A.,
Jacobeski,M.L. (1983)
Decreased de novo synthesis of glomerular
proteoglycans in diabetes: biochemical and
autoradiographic evidence.
Natl.Acad.Sci. 80, 2272-2275

- 25) Candiano,G.C., Ghiggeri,G.M., Delfino,G.,
Kawatorta,F., Queirolo,C. (1983)
Determination of a glycosyl subunit of human serum
albumin by Concanavalin-A-Sepharose.
Clin.Chem. 128, 29-40
- 26) O'Hara,J.A., Ferriss,J.B., Twomey,B., O'Sullivan,D.J.
(1983)
Pure metabolic control, hypertension and
microangiopathy independently increase the
transcapillary escape rate of albumin in diabetes.
Diabetologia 25, 260-263
- 27) Williams,S.K., Devenny,J.J., Ptensky,M.W. (1981)
Micropinocytic ingestion of glycosylated albumin by
isolated micro vessels: possible role in pathogenesis
of diabetic microangiopathie.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78, 2393-2397
- 28) Parving,H.H., Kastrup,H., Smidt,U.H., Andersen,A.R.,
Feldt-Rasmussen,B., Christiansen,J.S. (1984)
Impaired autoregulation of glomerular filtration rate
in Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients in
nephropathy.
Diabetologia 27, 547-552
- 29) Christiansen,J.S., Parving,H.H. (1984)
The effect of short-term strict metabolic control on
albuminuria in insulin-dependent diabetics with normal
kidney function and diabetic nephropathy.
Diabetic Nephropathy 3, 127-129

- 30) Viberti,G.C., Pickup,J.C., Bilous,R.W., Keen,H.,
Mackintosh,D. (1981)
Correction of exercise-induced microalbuminuria in
insulin-dependent diabetics after three weeks of
contineous insulin-infusion.
Diabetes 30, 818-823
- 31) Vittinghus,E., Mogensen,C.E. (1981)
Albumin excretion during physical exercise in
diabetes.
Acta Endocrinol. 97, (Suppl 242), 61-62
- 32) Christensen,C.K., Mogensen,C.E. (1982)
Abnormal exercise-induced albuminuria and blood
pressure rise in incipient diabetic nephropathy.
Diabetologia 23, 160
- 33) Mogensen,C.E., Vittinghus,E. (1975)
Urinary albumin excretion during exercise in juvenile
diabetes. A provocation test for early abnormalities.
Scan.J.Clin.Lab.Invest. 35, 295-300
- 34) Mogensen,C.E., Vittinghus,E., Solling,K. (1979)
Abnormal albumin excretion after two provocative renal
tests in diabetes.
Kidney Int. 16, 385-393
- 35) Viberti,G.C., Jarrett,R.J., McCortney,M., Keen,H.
(1978)
Increased glomerular permeability to albumin induces
by exercise in diabetic subjects.
Diabetologia 14, 293-300

- 36) Huttunen, N.P., Kaar, M.L., Puukka, R., Akerblom, H.
(1981)
Exercise induced proteinuria in children and adolescents with Type 1 (insulin-dependent) diabetes.
Diabetologia 21, 495-497
- 37) Hermansson, G., Ludvigsson, J. (1980)
Renal function and blood pressure reaction during exercise in diabetic and non-diabetic children and adolescents.
Acta. Paed. Scand. Suppl. 283, 86-92
- 38) Poortmans, J., Dorchy, H., Toussaint, D. (1982)
Urinary excretion of total proteins, albumin and β -2-micoglobulin during rest and exercise in diabetic adolescents with and without retinopathy.
Diabetes care 5, 617-623
- 39) Walter, H., Kemmler, W., Kestler, C., Gerbitz, K.D., Mehnert, H. (1981)
Behandlung von Typ-1-Diabetikern mit tragbaren, nicht rückgekoppelten Insulindosiergeräten: Probleme der Stoffwechselführung.
Verhandl. d. dt. Gesellsch. f. inn. Med. Band 87, 127-130
J.F. Bergmann Verlag, München
- 40) Pickup, J.C., Keen, H., Viberti, G.C., White, M.C., Kohner, E.M., Pearsons, J.A., Alberti, K.G.M.M. (1980)
Continuous subcutaneous insulin infusion in the treatment of diabetes mellitus.
Diabetes Care 3, 290-300

- 41) Sherwin,R.S., Tamborlane,W.V., Genel,M., Felig,P.
(1980)
Treatment of juvenile-onset diabetes by subcutaneous
infusion of insulin with a portable pump.
Diabetes Care 3, 301-308
- 42) Hepp,K.D., Buchholz,E., Renner,R., Funcke,H.J.,
Franetzkı,M., Kresse,H., Mehnert,H. (1979)
Programmierte kontinuierliche Insulininfusion zur
Diabeteseinstellung.
Klin.Wschr. 57, 117-124
- 43) Hepp,K.D., Renner,R., Piwernetz,K., Mehnert,H. (1980)
Control of insulin-dependent diabetes with portable
miniaturized infusion systems.
Diabetes Care 3, 309-311
- 44) Jungmann,E., Mondorf,A.W., Scherberich,J.E.,
Sperzel,R.K., Schöffling,K. (1982)
Schädigung des tubulären Apparates bei pathologischer
Glucose-Toleranz.
Münch.Med.Wschr. 124, 231-233
- 45) Kuhlmann,J., Seidel,G., Grötsch,H. (1983)
Die Alanin-Amino-peptidase-Ausscheidung als
Diagnostikum von Nierenkrankheiten.
Diagnostik 16, 27-29
- 46) Mondorf,A.W. (1982)
Harnenzyme - Charakterisierung und diagnostische
Anwendung.
Münch.Med.Wschr. 124, 230

- 47) Mondorf, A.W., Jacob, M., Petzoldt, R., Schoeppe, W.,
Schöffling, K. (1980)
Untersuchungen zur Enzymelimination aus der
Bürstensaummembran der proximalen Tubuluszelle in den
Harn bei Patienten mit Diabetes mellitus.
Akt. Endocrinol. 1, 190
- 48) Scherberich, J.E., Mondorf, A.W. (1979)
Excretion of kidney brush border antigens as a
quantitative indicator of tubular damage.
In: Dubach, U.C., Schmidt, U. (Hrsg.)
Diagnostic significance of enzymes and proteins in
Urine.
Verlag Huber, Bern 1979
- 49) Burchardt, Ulf. (1983)
Harnenzymausscheidung bei Erkrankungen der inneren
Organe.
z. ges. inn. Med. 21, Jahrgang 38, 565-570
- 50) Wellwood, J.M., Ellis, B.G., Price, R.G., Hammond, K.,
Thompson, A.E., Jones, M.F. (1975)
Urinary n-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in
patients with renal disease.
Br. Med. J. 3, 408-412
- 51) Brouhard, B.H., LaGrone, L., Travis, L.B., Pollard, T.G.
(1984)
Response of urinary n-acetyl- β -D-glucosaminidase to
rapid decrease in blood glucose.
Clin. Chim. Acta 140, 197-202

- 52) Whiting,P.H., Ross,I.S., Borthwick,L. (1979)
N-acetyl- β -D-glucosaminidase levels and diabetic
microangiopathy.
Clin.Chim.Acta 97, 191-197
- 53) Price,C.P., Forster,K.J. (1979)
Serum and urine glycosidase activities in diabetes
mellitus.
Clin.Biochem. 12, 231
- 54) Ellis,E.N., Brouhard,B.H., LaGrone,L., Travis,L.B.
(1983)
Urinary excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in
children with Type 1 diabetes mellitus.
Diabetes Care 6, 251-255
- 55) Whiting,P.H., Ross,I.S., Borthwick,L. (1979)
Serum and urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase in
diabetics on diagnosis and subsequent treatment and
stable insulin dependent diabetics.
Clin.Chim.Acta 92, 459-463
- 56) Schmidt,M.I., Duncan,B.B., Gitelman,H.J.,
Gioynne,J.T., Finn,W.F. (1983)
High levels of urinary N-acteyl- β -D-glucosaminidase in
children with diabetes: frequency and correlation with
glucose controll.
Diabetes 32, 30A
- 57) Cooper,E.H., Yu,H., Morgan,D.B. (1982)
Tubuläre Proteinurie.
Laboratoriumsblätter, Jahrgang 32, 1-15

- 58) Träxler, G. (1979)
Kinetische Nephelometrie.
Medizin. Technik 99/3, 79-84
- 59) Träxler, G. (1978)
Kinetische Nephelometrie - eine neue Routinemethode
zur Bestimmung von Proteinen in der klinischen Chemie.
Beckmann Report 1, 3-7
- 60) Werner, M., Mahruhn, D., Atoba, M. (1969)
Use of gel filtration in the assay of urinary enzymes.
J. Chromatog. 40, 254-263
- 61) Grötsch, H., Mattenheimer, H. (1974)
Measurement of Catalytic Activity in Body Fluids other
than Blood: Urine.
In: Bergmeyer, H. U.: Methods of Enzymatic Analysis
Verlag Chemie, 3. Auflage, 42-49
- 62) Knoll, E., Wissner, H., Rautenstrauch, H. (1980)
Vergleichende Untersuchungen zur diagnostischen
Wertigkeit von Diskelektrophorese der Urinproteine
und NAG-Ausscheidung zur Erkennung von tubulären
Nierenschädigungen bei chronischer Polyarthritits.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem., Vol 18, 53-58
- 63) Preuss, C. (1987)
Zur Ausscheidung der renal-tubulären Enzyme
N-acetyl- β -D-glucosaminidase und Alanin-amino-
peptidase im Urin beim Diabetes mellitus und
beim experimentellen akuten Nierenversagen.
Dissertation, LMU-München

- 64) Jung,K., Scholz,D. (1980)
An optimized Assay of Alanine Amino-peptidase
Activity in Urine.
Clin.Chem. Vol.26/9, 1251-1254
- 65) Schleicher,E.D., Gerbitz,K.D., Dolhofer,R., Reindl,E.,
Wieland,O.H., Edelmann,E., Haslbeck,M., Kemmler,W.,
Mehnert,H. (1984)
Clinical Utility of Nonenzymatically Glycosylated
Blood Proteins as an Index of Glucose Control.
Diabetes Care 7, 548-556
- 66) Schleicher,E., Wieland,O.H. (1981)
Spezific quantifikation by HPLC of protein (lysine)
bound glucose in human serum albumin and other
glycosylated proteins.
L.Chem.Clin.Biochem. 19, 81-87
- 67) Gerbitz,K.D., Kemmler,W. (1978)
Method for rapid quantitation and characterization of
insulin antibodies.
Clin.Chem. 24, 890-894
- 68) Heding,L.G. (1972)
Determination of Total Serum Insulin in Insulin-
treated Diabetic Patients.
Diabetologia 8, 260-266
- 69) Bergmeyer,H.U. (1974)
Grundlagen der enzymatischen Analyse.
In: Bergmeyer,H.U. (Hrsg.) Methoden der enzymatischen
Analyse.
Weinheim, Verlag Chemie 1974, 8.Auflage, 513

- 70) Überla, K. (1976)
 Biomathematik.
 Institut für Statistik und Biomathematik der
 Universität München
- 71) Kutter, D. (1980)
 Teststreifen zur Rationalisierung der mikroskopischen
 Harnuntersuchung.
 Dtsch. Med. Wschr. 105, 1246
- 72) Wiseman, M., Viberti, G.C., Mackintosh, D., Jarret, R.J.,
 Keen, H. (1984)
 Glycaemia, arterial pressure and micro-albuminuria in
 Type-1 (insulin-dependent) diabetes mellitus.
 Diabetologia 26, 401-405
- 73) O'Hara, J.A., Ferriss, J.B., Twomey, B., O'Sullivan, D.J.
 (1983)
 Poor Metabolic control, Hypertension and
 Microangiopathy Independently Increase the
 Transcapillary Escape rate of Albumin in Diabetes.
 Diabetologia 25, 260-263
- 74) Lang, F. (1983)
 Renale Durchblutung und Filtration.
 in: Lang, F.: Pathophysiologie, Pathobiochemie
 Enke Verlag, Stuttgart, 148-151
- 75) Christiansen, J.S., Gammelgaard, J., Frandsen, M.,
 Parving, H.H. (1981)
 Increase Kidney Size, Glomerular Filtration Rate and
 Renal Plasma Flow in Short-Term Insulin-dependent
 Diabetics.
 Diabetologia 20, 451-456

- 76) Wiseman, J.M., Saunders, A.J., Keen, H., Viberti, G.C.
(1985)

Effect of blood glucose control on increased
glomerular filtration rate and kidney size in insulin
-dependent diabetes.

N.Engl.J.Med. 312, 617-621

- 77) Ellis, E.N., Steffens, M.W., Groetz, F.C.,
Sutherland, D.E.R., Mauer, S.M. (1985)

Relationship of renal size to nephropathy in Type 1
(insulin-dependent) diabetes.

Diabetologia 28, 12-15

- 78) Ditzel, J., Junker, K. (1972)

Abnormal glomerular filtration rate, renal plasma flow
and renal protein excretion in recent and short term
diabetics.

Br.Med.J. 2, 13-19

- 79) Schleicher, E., Deufel, T., Wieland, O.H. (1981)

Non-enzymatic glycosylation of human serum
lipoproteins.

FEBS Letters Vol.129, 1-4

- 80) Kennedy, L., Baynes, J.W. (1984)

Non-enzymatic glycosylation and the chronic
complications of diabetes.

Diabetologia 26, 93-96

- 81) Dolhofer, R., Wieland, O.H. (1979)
Glycosylation of serum albumin: elevated glycosyl-
albumin in diabetic patients.
FEBS Letters 103, 282-286
- 82) Dolhofer, R., Wieland, O.H. (1980)
Increased glycosylation of serum albumin in diabetes
mellitus.
Diabetes 29, 417-422
- 83) Deen, W.M., Bohrer, M.P., Brenner, B.M. (1979)
Macromolecule transport across glomerular capillaris:
Application of pore theory.
Kidney Int. 16, 353-365
- 84) Rennke, H.G., Olson, J.L., Venkatachalm, M.A. (1981)
Glomerular filtration of macromolecules: normal
mechanism and pathogenesis of proteinuria.
Contr.Nephrol. 24, 30-41
- 85) Schurek, H.J., Kühn, K., Pagel, H., Flohr, H.,
Zeh, M., Neumann, K.H., Alt, J., Stolte, H. (1986)
Untersuchungen zum Mechanismus der glomerulären
Proteinurie.
Dt.Ges.f.Klin.Chem., 3.86, 117-118
- 86) Rennke, H.G., Patel, Y., Venkatachalm, M.A. (1978)
Glomerular filtration of proteins: clearance of
anionic, neutral and kationic horseradish peroxidase
in the rat.
Kidney Int. 13, 324-328

- 87) Galaske, R.G., Van Liew, J.B., Feld, L.G. (1979)
Filtration and reabsorption of endogenous low-molecular-weight protein in the rat kidney.
Kidney Int. 16, 394-403
- 88) Christensen, E.I., Rennke, H.G., Carone, F.A. (1983)
Renal tubular uptake of protein: effect of molecular charge.
Am. J. Physiol. 244, 436-441
- 89) Strauss, W. (1964)
Cytochemical observation on the relationship between lysosomes and phagosomes in kidney and liver by combined staining for acid phosphatase and intravenously injected horseradish peroxidase.
J. Cell. Biol. 20, 497-507
- 90) Oken, E., Cotes, S.C., Mende, C.W. (1972)
Micropuncture study of tubular transport of albumin in rats with aminonucleoside nephrosis.
Kidney Int. 7, 3-11
- 91) Oken, D.E., Kirschbaum, B.B., Landwehr, D.M. (1981)
Micropuncture study of the mechanisms of normal and pathologic albuminuria.
Contr. Nephrol. 24, 1-7
- 92) Mogensen, C.E., Solling, K. (1977)
Studies on renal tubular protein reabsorption: partial and near complete inhibition by certain amino acids.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 37, 477-486

- 93) Abrass,C.K. (1984)
Diabetic Proteinuria: Glomerular or Tubular
in Origin?
Am.J.Nephrol. 4, 337-346
- 94) Feldt-Rasmussen,B., Baker,L., Decker,T. (1985)
Exercise as a provocative test in early renal disease
in Type 1 (insulin-dependent) diabetes: albuminuric,
systemic, and renal haemodynamic responses.
Diabetologia 28, 389-396
- 95) Rasmussen,B., Mathiesen,E.R. (1984)
Variability of Urinary Albumin Excretion in
Incipient Diabetic Nephropathy.
Diab.Nephr. 3, 101-103
- 96) Viberti,G.C., Keen,H. (1984)
The Patterns of Proteinuria in Diabets mellitus.
Diabets 33, 686-692
- 97) Viberti,G.C., Wiseman,M., Redmond,S. (1984)
Microalbuminuria: Its History and Potential for
Prevention of Clinical Nephropathy in Diabetes
Mellitus.
Diab.Nephr. 3, 79-81
- 98) Mogensen,C.E., Steffes,M.W., Deckert,T.,
Christiansen,J.S. (1981)
Functional and Morphological Renal Manifestations
in Diabetes Mellitus.
Diabetologia 21, 89-93

- 99) Mogensen, C.E. (1984)
Microalbuminuria and Incipient Diabetic
Nephropathy.
Diab.Nephr. 3, 75-78
- 100) Jung, K.M., Pergande, M., Schröder, K., Schreiber, G.
(1982)
Influence of pH on the activity of enzymes in urine at
37° C.
Clin.Chem. 28, 1814
- 101) Jung, K., Scholz, D., (1980)
An optimized assay of alanine aminopeptidase
activity in urine.
Clin.Chem. 26, 1251-1254
- 102) Lockwood, T.D., Bosmann, H.B. (1979)
The use of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase
in human renal toxicology.
Tox.Appl.Pharmacol. 49, 323-336
- 103) Paigen, K., Petersen, J. (1978)
Coordinacy of lysosomal enzyme excretion in
human urine.
J.Clin.Invest. 61, 751-762
- 104) Wellwood, J.M., Price, R.G., Ellis, B.G., Thompson, E.
(1976)
A note on the practical aspects of the assay of
N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine.
Clin.Chem.Acta 69, 85-91

- 105) Maruhn, D. (1983)
 Methodische Aspekte der Harnenzymologie.
 Z.f.d.ges.Inn.Med. 38, 557-564

- 106) Jung, K., Scholz, D., Diego, J., May, G. (1983)
 Harnenzymausscheidung bei nierentransplantierten
 Patienten.
 Z.f.d.ges.Inn.Med. 38, 581-589

- 107) Guder, G.W., Ross, B.D. (1984)
 Enzyme distribution along the nephron.
 Kidney Int. 26, 101-111

- 108) Price, G. (1984)
 Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase as an
 indicator of renal disease.
 Br.Med.J. 150-159

- 109) Poortmans, J.R. (1972)
 Effect of exercise on the renal clearance of amylase
 and lysozyme in humans.
 Clin.Sci. 43, 115-120

- 110) Brouhard, B.H., Allen, K., Sapire, D., Travis, L.B. (1985)
 Effect of Exercise on the Urinary N-acetyl- β -D-
 glucosaminidase Activity and Albumin Excretion in
 Children with Type 1 Diabetes Mellitus.
 Diabetes Care Vol.8, Nr.5, 466-472

- 111) Edelmann, E., Walter, H., Biermann, E., Schleicher, E.,
 Kemmler, W., Bachmann, W., Mehnert, H. (1984)
 Behandlung mit kontinuierlicher subcutaner Insulin-
 infusion (CSII) nach Erstmanifestation eines insulin-
 pflichtigen Diabetes mellitus.
 Akt.Endokrin. 5, 86

- 112) Koivisto, V.A., Huttunen, P., Vierikko, P. (1981)
Continuous subcutaneous insulin infusion corrects
exercise-induced albuminuria in juvenile diabetes.
Br. Med. J. 282, 778-779
- 113) Walter, H., Kemmler, D., Kronski, D., Franetzki, M.,
Prestele, K., Mehnert, H. (1982)
Therapie einer Typ-1-Diabetikerin mit Hilfe eines
implantierten, programmierbaren Insulindosiergeräts.
Akt. Endokrin. Stoffw. 2, 48-50
- 114) Prestele, K., Franetzki, H., Kresse, H. (1980)
Development of programmcontrolled portable insulin
delivery devices.
Diabetes Care 3, 362-368
- 115) Dietze, G., Standl, E., Wicklmayr, M. (1981)
Körperliche Aktivität und Sport bei Diabetes mellitus.
W. Zuckschwerdt Verlag, München
- 116) Skyler, J.S. (1979)
Diabetes and exercise: clinical implications.
Diabetes Care 2, 307
- 117) Vranic, H., Berger, M. (1979)
Exercise and diabetes mellitus.
Diabetes 28, 147
- 118) Berger, M., Hagg, S.A., Ruberman, N.B. (1975)
Glucose metabolism in perfused skeletal muscle.
Interaction of insulin and exercise on glucose uptake.
Biochem. J. 146, 231

- 119) Standl, E., Janka, H.U., Dexel, T., Kolke, H.J. (1976)
Muscle metabolism during rest and exercise: Influence
on the oxygen transport system of blood in normal and
diabetic subjects.
Diabetes 25, 914
- 120) Wicklmayr, M., Dietze, G. (1978)
On the mechanism of glucose release from the muscle of
juvenile diabetics in acute insulin deficiency.
J.Clin.Invest. 8, 81
- 121) Berger, M., Holban, P.A., Assal, J.B., Offord, R.E.,
Vranic, M. (1979)
Pharmacokinetics of subcutaneously injection treated
insulin. Effect of exercise.
Diabetes 28, 53
- 122) Kemmer, F.W., Berchthold, P., Perger, M., Cüppers, H.J.,
Starke, A., Gries, F.A., Zimmermann, H. (1979)
A mechanism of the exercise induced fall of blood
glucose in insulin treated diabetics.
Diabetes 28, 360
- 123) Koivisto, V.A., Felig, P. (1978)
Effects of leg exercise on insulin absorption in
diabetic patients.
New.Engl.J.Med. 198, 79
- 124) Zinman, B., Vranic, M., Albisser, A.M., Leitell, B.S.,
Marliss, E.B. (1979)
The role of insulin in the metabolic response to
exercise in diabetic man.
Diabetes 28, Suppl.1, 76

- 125) Walter, H., Kemmler, W., Gerbitz, K.D., Kestler, C.,
Mehnert, H. (1982)
I.V. Square Wave Insulin Infusion: Kinetics of Plasma
IRI and Day by Day Reproducibility in Type 1
Diabetics.
Horm. and Metab. Research 12, 264-266
- 126) Issekutz, B. (1980)
The role of hypoinsulinemia in exercise metabolism.
Diabetes 29, 629-635
- 127) Pruett, E.D. (1970)
Plasma insulin during prolonged work at near maximal
oxygen uptake.
J. Appl. Physiol. 29, 155-158
- 128) Stearns, S., Tepperman, H.M., Teppermann, J. (1979)
Studies on the utilization and mobilisation of lipid
in skeletal muscles from streptozocin-diabetic
and control rats.
J. Lipid. Res. 20, 654
- 129) Dietze, G., Wicklmayr, M., Hepp, K.D., Bogner, W.,
Mehnert, H., Czempel, H., Henftling, H.G. (1976)
Die Glykogenolyse und Glukoneogenese der menschlichen
Leber beim juvenilen Diabetes mellitus.
In: Behringer, Diabetes mellitus, 619
- 130) Garland, P.B., Newsholm, E.A., Randle, P.J. (1964)
Regulation of glucose uptake by muscle.
Biochem. J. 93, 665-673

Lebenslauf:

Am 1.5.1956 wurde ich in München geboren. Meine Eltern sind Michael und Erika Gerstner, geborene Baumgart.

Schulausbildung:

1962-1966 Volksschule an der Plinganserstraße, München

1966-1975 Klenze-Gymnasium, München

21.6.1975 Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife

Wehrdienst:

1975-1986 Katastrophenschutz im Bayerischen Roten Kreuz

Studium:

1980-1986 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians Universität München

14.11.1986 Approbation als Arzt

1983-1987 Dissertationsarbeit am Institut für Diabetesforschung München

5.11.1987 Promotion an der Ludwig-Maximilians-Universität

Beruf:

seit 1.2.1987 Assistenzarzt am Krankenhaus München Bogenhausen

